



UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département Des Sciences Biologiques



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : **Biochimie appliquée**

Présenté par :

M^{elle} **KHOULDI Hadjer**

M^{elle} **ZAHARI Nassira**

Thème

*Etude des polysaccharides de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del. récoltée dans la région
de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien)*

Soutenu publiquement

Le : **29/05/2017**

Devant le jury :

Présidente	<i>OULD EL HADJ KHELIL Aminata</i>	Professeur	U.K.M Ouargla
Examineur	BOUAL Zakaria	MCA	U.K.M Ouargla
Encadreur	OULD EL HADJ Mohammed Didi	Professeur	U.K.M Ouargla
Co-encadreur	<i>MEHELLOU Zineb</i>	MA	U.K.M Ouargla

Année universitaire : 2016/2017



Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH tout Puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience afin de réaliser ce modeste travail.

Nous exprimons notre plus vive reconnaissance à Monsieur OULD ELHADJ Mohamed Didi, professeur au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, de bien vouloir accepter de diriger ce travail. Nous vous remercions aussi pour votre présence et vos conseils précieux.

Nous présentons nos remerciements les plus sincères à Mademoiselle MEHELLOU Zineb maître d'assistance au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla pour son aide son ouverture d'esprit, ses conseils précieux et sa vision de la recherche scientifique. Nous vous remercions vivement pour vos efforts, votre guide, votre disponibilité au cours de ce travail et pour votre esprit critique en matière de rédaction de ce travail.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances à Madame OULD ELHADJ-KHELIL Aminata, professeur au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, vous qui nous faites l'honneur de présider ce jury.

Nos remerciements s'adressent encore monsieur BOUAL Zakaria, maître de conférences A au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous sommes particulièrement honoré de vous avoir vu assurer d'examiner notre mémoire, mais aussi pour vos efforts, votre guide, votre disponibilité et votre patience au cours de ce travail.

Nous remercions le Laboratoire d'analyse médical «IBN ROCHD» à Ghardaïa en particulier son Directeur Dr. AMMI SAÏD Mustapha de nous avoir accueillie au sein du laboratoire. Nos remerciements vont également aux tous les techniciens des laboratoires pédagogiques de l'université Kasdi Merbah-Ouargla.

Nous ne pourrions pas conclure sans remercier vivement toutes personnes qui nous soutenues de près ou de loin au cours de la réalisation de ce modeste travail, nos familles et nos

amis (es), particulièrement nos collègues de doctorat et de master en biochimie appliquée et à tous ce qui a contribué à l'évolution de cette étude.

Dédicace

À mes chers parents

À ma grande famille

À tous mes amis

À mes enseignants

À mes sœurs Hadjer et Zineb

Nassira



Dédicace

A ma belle famille

A mes chers amis

A mes enseignants

A mes sœurs Nassira et Zineb

Hadjer

Liste des abréviations

ABTS	2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6- sulphonique
Ara	L-arabinose
ARNm	Acide ribonucléique message
BSA	Sérum albumine bovine
CCM	Chromatographie sur couche mince
DM	Degré de méthylation
DP	Degré de polymérisation
DPPH	1,1' diphenyl-2-picryl hydrazyl,
ERO	Espèces réactives d'oxygène
Fru	D-fructose
G6PD	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
GA	Gomme arabique
Gal	D-galactose
Gal A.	Acide D-galacturonique
Glc	D-glucose
Glc A.	Acide D-glucuronique
HM	Hautement méthylées
HPAEC- PAD	Chromatographie échangeuse d'anions, de haute performance à détecteur ampérométrique pulsé
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
LM	Faiblement méthylées
Man	D-mannose
m-HDP	méta-hydroxydiphényl
pH	potentiel d'hydrogène

<i>p</i>-NP	<i>p</i> -Nitrophénol
<i>p</i>-NPG	<i>p</i> - nitrophényl- α -D-glucopyranoside
POS	Oligosaccharides pectiques
R_f	Rapport frontal
Rha	L-rhamnose
RMN	Résonance magnétique nucléaire
Rpm	Rotation par minute
Sac	Saccharose
SM	Spectrométrie de masse
TFA	Acide trifluoroacétique
Xyl	D-xylose

Liste des tableaux

1	Préparation du test antidiabétique	27
2	Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques utilisés au cours de l'expérimentation	53
3	Origine et type des appareils utilisés au cours de l'expérimentation	55
4	Méthodes des préparations des différentes solutions utilisées	56
5	Méthodes des préparations des différentes solutions mères	58
6	Gamme étalon du glucose 0.001% à 0.01%	58
7	Gamme étalon d'acide glucuronique 0.001% à 0.01%	59
8	Gamme étalon de sérum albumine bovine 0.001% à 0.1%	59
9	Les rapports frontaux (R_f) des oses étalons et l'extrait polysaccharidique (APS) dans les trois systèmes de CCM	62
10	Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique	63

Liste des photos

Photo 1	Gomme d' <i>Astragalus gyzensis</i> Del.	19
----------------	--	----

Liste des figures

1	Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosolubles	20
2	Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique de la gomme d' <i>A.gyzensis</i> Del.	30
3	Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d' <i>A.gyzensis</i> Del. [Système 1: d'acétate d'éthyle, pyridine, eau, n-butanol, acide acétique:5-4-4-10-2(v/v)]	32
4	Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d' <i>A.gyzensis</i> Del. [Système 2: de chloroforme, n-butanol, méthanol, acide acétique, eau:4,5-12,5-5-1,5-1,5 (v/v)]	33
5	Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d' <i>A.gyzensis</i> Del. [Système 3: d'acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau: 8,5-2-2-1,5 (v/v)]	34
6	Pourcentages d'inhibition (%) de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose et de l'extrait polysaccharidique	36
7	Courbe d'étalonnage pour les oses totaux (DUBOIS <i>et al.</i> , 1956)	60
8	Courbe d'étalonnage pour les oses neutres (MONSIGNY <i>et al.</i> , 1988)	60
9	Courbe d'étalonnage pour les oses acides (BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN, 1973)	61
10	Courbe d'étalonnage pour les protéines (BRADFORD, 1976)	61

Liste des annexes

1	Caractéristiques physicochimique et origine des produits chimiques utilisés	54
2	Origine et types des appareils utilisés au cours de l'expérimentation	55
3	Méthodes des préparations des différentes solutions utilisées	56
4	Méthodes des préparations des différentes solutions mères et les différentes gammes étalons	58
5	Courbes d'étalonnage des compositions biochimiques	60
6	Rapports frontaux (R_f) des oses étalons et l'extrait polysaccharidique (APS) dans les trois systèmes de CCM	62
7	Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique pour l'activité antidiabétique	63

Table de matière

Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des photos	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Introduction	2

Chapitre I- Aperçu général sur les polysaccharides

I.1.- Généralités	5
I.2.- Polysaccharides d'origines végétales	6
I.2.1.- Polysaccharides de réserve	6
I.2.1.1.- Amidon	6
I.2.1.2.-Mannanes	7
I.2.1.3.-Caroube	7
I.2.1.4.-Guar	8
I.2.1.5.-Fructanes	8
I.2.2.-Polysaccharides de structure	9
I.2.2.1.-Cellulose	9
I.2.2.2.-Pectines	9
I.2.2.3.-Xylanes	10
I.2.3.-Gommes et mucilages	11
I.2.3.1.- Gomme arabique	11
I.2.3.2.- Mucilage de chia	12
I.3.- Activités biologiques des polysaccharides	12
I.3.1.- Activité antioxydante	13
I.3.2.-Activité antidiabétique	14
I.3.3.-Activité immunomodulatrice	15

Chapitre II- Matériel et méthodes

II.1.-Principe d'étude	17
II.2.-Choix de la plante	17
II.3.-Matériel d'étude	18

II.3.1.-Description botanique d' <i>Astragalus gyzensis</i> Del.....	18
II.3.2.-Répartition géographique	19
II.3.3.-Récolte et parties étudiées	19
II.4.-Etude des polysaccharides.....	19
II.4.1.-Extraction des polysaccharides hydrosolubles	20
II.4.2.-Composition de l'extrait polysaccharidiques.....	21
II.4.2.1.-Dosage des oses totaux.....	21
II.4.2.2.-Dosage des oses neutres	22
II.4.2.3.-Dosage des oses acides.....	22
II.4.2.4.-Dosage des protéines	23
II.4.3.-Caractérisation des résidus glycosidiques	24
II.4.3.1.-Hydrolyse des liaisons glycosidiques.....	24
II.4.3.2.-Chromatographie sur couche mince (CCM)	25
II.4.4.-Activité antidiabétique	27

Chapitre III- Résultats et discussion

III.1.-Rendement polysaccharidique	30
III.2.-Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble	31
III.3.-Caractérisation qualitative des extraits polysaccharidiques.....	32
III.4.-Activité antidiabétique	36
Conclusion et perspectives	41
Références bibliographiques	44

Annexes

Résumés

Introduction

Le Sahara septentrional, avec sa grande superficie, possède une végétation diffuse, clairsemée et très irrégulière (OULD EL HADJ *et al.*, 2003). Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent d'être des remèdes de différentes maladies. Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont été l'unique médicament oral pour soigner les pathologies, en même temps que la matière première pour la médecine moderne. (OULD EL HADJ *et al.*, 2003; KEMASSI *et al.*, 2014). De nombreux travaux notoires ont pu démontrer l'activité biologique et les modes d'action thérapeutiques des métabolites extraites à partir des plantes. Ces composés présentent une nouvelle source des molécules bioactives (KEMASSI *et al.*, 2014).

Les polysaccharides représentent une classe très intéressante de produits bioactifs chez les champignons, les algues, et les plantes. Ils montrent aussi des véritables auxiliaires indispensables au bon fonctionnement de la vie quotidienne. Ils sont identifiés comme composés multifonctionnels, avec plusieurs activités pharmacologiques (DETERS *et al.*, 2005; BOUAL *et al.*, 2013; YU *et al.*, 2017). Ces biomolécules ont attiré une grande attention pendant les dernières années grâce à leur large spectre d'activités pharmacologiques divers tel que les propriétés antitumorales, immunomodulatrices et antioxydantes (BOUAL *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2016).

YU *et al.* (2017) ont montré que les différentes fractions polysaccharidiques de ginseng de l'Amérique *Panax quinquefolius* L. (Araliaceae) ont un effet immunostimulant lui conférant d'être utilisés comme un immunoadjuvant ou comme un aliment fonctionnel. SOUZA *et al.* (2015) ont signalé que les polysaccharides isolés à partir *Geoffroea spinosa* G. de la famille des Fabaceae ont une activité anticoagulante et antithrombotique. Les polysaccharides fractionnés d'*Athyrium multidentatum* (Doll.) Ching (Athyriaceae) présentent une activité antioxydante forte contre les radicaux superoxydes et les radicaux hydroxyles, où une corrélation significative est notée entre les propriétés antioxydantes avec le poids moléculaire et le contenu sulfate (LIU *et al.*, 2013).

Il serait intéressant d'identifier, de caractériser et d'évaluer de nouveaux polysaccharides des plantes médicinales africaines (ANGONE *et al.*, 2010). Face à ce constat, le présent travail s'oriente sur l'étude des polysaccharides issus de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del. (Fabaceae), une plante spontanée à caractère médicinal récoltée dans la région de Ghardaïa. L'étude porte sur la caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles et leur effet antidiabétique.

L'objectif de la présente étude est d'identifier de nouvelles sources de polysaccharides et de fournir des nouvelles connaissances au sujet de leurs activités biologiques. Ainsi, on cible vers un élargissement de leurs spectres d'exploitation dans le domaine biomédical. Comme on vise aussi vers une contribution à la valorisation des plantes spontanées à caractère médicinal du Sahara septentrional Est algérien et une justification de leurs utilisations en médecine traditionnelle.

Ce travail est structuré en trois parties, dont La première est consacrée à une synthèse bibliographique qui décrit un aperçu général sur les polysaccharides, en indiquant quelques exemples de polysaccharides végétaux.

La seconde partie porte sur les techniques expérimentales d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del., de la détermination de leur composition globale et de la caractérisation des résidus glycosidiques. Ainsi, il montre l'activité antidiabétique testée par le pouvoir inhibiteur de l'enzyme α -D-glucosidase.

Le troisième chapitre expose les principaux résultats obtenus, suivi d'une discussion. Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives qui sont un ensemble de réflexions qui achèvent ce travail.

Chapitre I

Aperçu général sur les polysaccharides

I.1.- Généralités

Les glucides sont constitués selon la formule empirique $(CH_2O)_n$. Ils incluent les sucres simples, les polysaccharides et leurs dérivés. Ces composés sont les principales substances nutritives de la plupart des organismes, notamment sous la forme de sucre simple (glucose). Ils fournissent l'énergie et les carbones nécessaires pour la biosynthèse de protéines, d'acides nucléiques, de lipides et d'autres glucides (SANCHEZ, 2006).

Les polysaccharides sont des polymères des molécules d'hydrates de carbone composées de longues chaînes des unités de monosaccharides (plus de 20 résidus) reliés par des liaisons glycosidiques. Leur hydrolyse libère le monosaccharide ou oligosaccharides constitutifs. Il ont une diversité structurelle importante qui varie d'oligomères linéaires à des chaînes fortement ramifiées (CIOCI, 2006; FLOCH *et al.*, 2015).

Les polysaccharides peuvent être classés de différentes manières possibles, telles que sur la base de la structure, de la composition chimique, de la solubilité, des sources et des applications. En ce qui concerne la composition chimique, les polysaccharides sont classés en deux types, homopolysaccharides ou homoglycanes, qui sont constitués d'un seul type de monosaccharide. Par exemple, la cellulose et le glycogène se composent de glucose. Les hétéropolysaccharides ou hétéroglycanes, qui se composent de plusieurs types de monosaccharide, tels que l'héparine constitué d'acide α -L-idopyranosyluronic 2-sulfate et 2-désoxy-2-sulfoamino- α -D-glucopyranose 6-sulfate (LIU *et al.*, 2015). L'héparine est un polysaccharide hautement sulfaté et c'est le plus largement utilisé cliniquement comme anticoagulant et antithrombotique (SOUZA *et al.*, 2015).

La conformation de la chaînes polysaccharidique est fortement dépendante non seulement de pH et la force ionique du milieu, notamment dans le cas des polyélectrolytes, mais aussi de la température et la concentration de certaines molécules. Les polysaccharides, uns des molécules les plus répandus dans la nature, sont divisés en deux sous types, soit des polysaccharides anioniques et des polysaccharides cationiques. Ils présentent des intérêts pharmaceutiques importants (PRAJAPATI *et al.*, 2014).

Les polysaccharides peuvent être obtenus à partir d'un certain nombre de sources, y compris les algues, les plantes, les bactéries, les champignons, les insectes, les crustacés et les

animaux. Ils peuvent être ajustés structurellement grâce au génie génétique (PRAJAPATI *et al.*, 2014).

Les propriétés des polysaccharides sont largement exploitées dans différents secteurs industriels, aussi bien en agroalimentaire comme agents texturants, gélifiants, stabilisants, émulsifiants et épaississants. Ces substances biocompatibles aux effets thérapeutiques sont utilisés dans le domaine pharmaceutique et médicale (ROGER, 2002; JEDDOU *et al.*, 2016), avec plusieurs activités pharmacologiques; immunomodulatrice, antitumorale (YU *et al.*, 2017), antidiabétique (ZHANG et LI, 2015), antioxydante, antiinflammatoire, anticoagulante (JEDDOU *et al.*, 2016), antibactérienne (ZHU *et al.*, 2017).

I.2.- Polysaccharides d'origines végétales

Les sources de polysaccharides végétaux sont multiples. Ils se distinguent les polysaccharides de réserve (amidon, caroube), les polysaccharides de structures (cellulose, hémicelluloses, pectines), les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages (mucilage de chia) (WARRANT, 2004).

I.2.1.- Polysaccharides de réserve

En raison de leur nature polymérique, les glucides de réserve exercent une pression osmotique plus faible et peuvent être stockés en plus grande quantité que leurs constituants de base comme le glucose (RUFF, 2008).

I.2.1.1.- Amidon

L'amidon se compose de deux polymères principaux, l'amylose linéaire et l'amylopectine hautement ramifiée. L'amylose est essentiellement un polymère linéaire des unités de glucopyranose liées par α -(1→4). Son poids moléculaire est d'environ $1 \cdot 10^6$ g. mol⁻¹. Il présente un degré de polymérisation de 250-1000 unités de D-glucose. L'amylopectine est une molécule fortement ramifiée de D-glucopyranosyl liés en α -(1→4) branchés selon la liaison α -(1→6). L'amylopectine est l'une des plus grandes molécules présente dans la nature, d'un poids moléculaire de l'ordre de $1 \cdot 10^7$ à $1 \cdot 10^9$ g. mol⁻¹ et un degré de polymérisation (DP) de 5000 à 50 000 unités de D-glucose (VANIÉRI *et al.*, 2017).

L'amidon est un excellent matériel pour usages industriels en raison de ses propriétés non toxiques, renouvelables et biodégradables. Toutefois, les propriétés intrinsèques telles que les propriétés thermiques, mécaniques, biologiques et la pauvre capacité de transformation de l'amidon ont limité ses applications directes. Ainsi, diverses modifications chimiques, physiques et enzymatiques ou un mélange avec d'autres matériaux, ont fourni des solutions pour obtenir des propriétés plus souhaitables (LIU *et al.*, 2015).

I.2.1.2.-Mannanes

La famille des mannanes de polysaccharides hémicellulosiques contenant des résidus mannosyl liés en β -(1→4) sont répandus, mais sont quantitativement mineures. Les résidus de mannoses dans les glucomannanes sont intercalés par du glucose lié en β -(1→4). Les résidus galactosyl unique sont liés par l' α -(1→6) au squelette des mannanes dans les galactomannanes qui sont des polysaccharides de stockage dans les parois d'endosperme des Leguminosae et des Palmae. Les galactoglucomannanes, avec une substitution mineure de galactose, sont des polysaccharides abondants des parois secondaires épaissies des gymnospermes. Ils sont également identifiés dans une variété d'autres tissus. Les résidus mannosyl de certains polysaccharides de mannanes peuvent être acétylée. Les mannanes peuvent avoir un rôle structurel dans la réticulation des fibrilles de cellulose (HANDFORD *et al.*, 2003).

I.2.1.3.-Caroube

La caroube est un polysaccharide de l'endosperme de la graine de caroubier, ou *Ceratonia siliqua* L., de la famille des *Caesalpinaceae*. Ce polymère est formé d'une chaîne principale de résidus D-mannopyranoses liés en β -(1→4) sur laquelle se greffent des résidus D-galactopyranoses uniques grâce à une liaison de type α -(1→6) (GILLET *et al.*, 2014).

La gomme de caroube est à l'heure actuelle et grâce à sa capacité d'auto-association, un additif alimentaire codé par E410 utilisé industriellement pour ses propriétés texturantes, épaississantes, viscosifiantes et stabilisantes. Elle entre notamment dans la composition des crèmes glacées, des soupes, des friandises, des nourritures pour les bébés, des produits laitiers, des boissons alcoolisées et non alcoolisées et des aliments pour les bétails... etc. La gomme de caroube possède également la propriété de former des gels par association à d'autres polysaccharides tel que les carraghénanes, le xanthane et l'agarose, à des concentrations bien inférieures à une utilisation de ces polysaccharides seuls (GILLET *et al.*, 2014).

I.2.1.4.-Guar

La gomme de guar est un galactomannane dérivé de *Cyamopsis tetragonolobus* L. de la famille des Fabaceae. Il agit comme un excellent épaississant. Certaines études ont évalué l'addition de la gomme de guar aux régimes de poissons, où ils ont observé les attributs physiques des matières fécales, la digestibilité des nutriments, l'état d'oxydation, la morphologie du tractus gastro-intestinal et des effets sur le métabolisme du glucose et des lipides. Cependant, les mécanismes par lesquels la gomme de guar agit sur la composition corporelle et module la communauté microbienne dans le tractus demeurent incertains (RAMOS *et al.*, 2015).

I.2.1.5.-Fructanes

Les polymères de fructose hydrosolubles sont appelés fructanes ou fructosanes. Ils existent sous forme d'une large gamme d'oligo- et de polysaccharides chez de nombreuses espèces des bactéries, des champignons et des plantes (CHANDRASHEKARA et VENKATESH., 2016).

Les fructanes sont des polysaccharides de réserve majeure dans les plantes qui appartiennent principalement aux familles des Asteraceae, des Campanulaceae, des Boraginaceae, des Poaceae et des Liliaceae (KRIVOROTOVA et SEREIKAITÉ, 2014). Ce sont des polymères du fructose liés par une liaison β -(2→1) ou β -(2→6) à une molécule de glucose terminal (SIMS, 2003).

Les fructanes sont classés en différentes familles sur la base de leurs liaisons glycosidiques, consistant des unités D-fructofuranoses liées en β -(2 → 1) telles que l'inuline, des unités D-fructofuranoses liées en β -(2 → 6) telles que les lévanes, ou des structures hautement ramifiées constituées à la fois des résidus D-fructofuranoses liées en β -(2 → 1) et β -(2 → 6) tels que les graminanes (CHANDRASHEKARA et VENKATESH., 2016).

La majorité des glucides dans les gousses d'ail; *Allium sativum* L., de la famille d'Amaryllidaceae sont les fructanes. L'ail contient un mélange de fructooligosaccharides et de fructopolysaccharides dont la masse moléculaire varie entre 1000 et 6800 Da, avec un DP plus que 38 (CHANDRASHEKARA et VENKATESH., 2016).

I.2.2.-Polysaccharides de structure

Les polysaccharides structurels sont les composants des parois cellulaires des plantes, parmi les quels les celluloses, les pectines et les xylanes.

I.2.2.1.-Cellulose

La cellulose est l'un des polymères naturels les plus répandus sur Terre. C'est le composant structural majoritaire des plantes. Il se retrouve dans les parois cellulaires végétales primaire et secondaire. Il dessine la structure de la cellule végétale (CLAISSE, 2012).

La cellulose est un polymère linéaire et très ordonnée, avec un poids moléculaire élevé de 10^6 Da ou plus. Elle constituée de résidus de D-glucose unis par des liaisons β (1 \rightarrow 4) (FLOCH *et al.*, 2015). Sa structure chimique comporte des groupements hydroxyles qui se trouvent en position équatoriale. Elles favorisent l'établissement de liaisons hydrogènes fortes inter et intra-caténares de type force de Van der Waals. Ces liaisons confèrent ainsi au polysaccharide une grande densité, stabilité et rigidité (CLAISSE, 2012).

La cellulose est insoluble dans la plupart des solvants. Sa structure cristalline en découlant des propriétés mécaniques de résistance, et un arrangement des chaînes de cellulose en fibrilles qui apporte également une grande flexibilité. L'ensemble de ces propriétés physico-chimiques et mécaniques, en plus de sa grande abondance et disponibilité, font de la cellulose l'un des polysaccharides le plus étudié (CLAISSE, 2012).

I.2.2.2.-Pectines

Les pectines sont des polysaccharides complexes que l'on retrouve principalement dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des plantes supérieures. Elles jouent un rôle important dans l'adhésion et le maintien des cellules des tissus végétaux en formant un ciment rattachant les cellules les unes aux autres (GUIGNARD, 2000; COMBO *et al.*, 2011). Ils sont des rhamnogalacturonanes qui sont constituées par des chaînes faiblement polymérisées de monomère d'acide galacturonique (Gal A) reliés en α -(1 \rightarrow 4). De place en place, approximativement tous les vingt acides galacturoniques, une molécule de rhamnose introduit dans la chaîne un coude et confère à l'ensemble une configuration en zig-zag (GUIGNARD, 2000). Les pectines représentent de 0,5 à 4 % du poids frais du matériel végétal, avec une masse moléculaire variant de 10 à 400 kDa suivant leur origine. Ils présentent des propriétés physico-

chimiques spécifiques du fait de leur caractère polyélectrolyte. Ce caractère leur confère la capacité de s'associer entre eux et de former des gels en présence de cations bivalents tels que le calcium (COMBO *et al.*, 2011).

Généralement, les pectines sont caractérisées par leur degré de méthylation (DM) défini comme étant le pourcentage de groupements carboxyles estérifiés par le méthanol. Contrairement à l'acétylestérisation, la méthylestérisation est en proportion considérable dans les pectines natives. Ainsi, en fonction du DM, on distingue:

- les pectines HM (hautement méthylées) qui sont des pectines à un degré d'estérisation est supérieur à 50 %,
- les pectines LM (faiblement méthylées) qui sont les pectines à un degré d'estérisation est inférieur à 50 %.

L'utilisation des pectines dans le développement d'oligosaccharides à effet prébiotique et pharmaceutique constitue un nouveau domaine émergent. Pour cela, un grand intérêt est porté aux oligosaccharides pectiques (POS) en raison de leurs potentialités d'utilisation comme nouvelle génération de prébiotiques. Certaines des qualités attribuées à ces oligosaccharides sont la protection contre le cancer du colon, l'action antibactérienne, la répression de l'accumulation des lipides dans le foie, l'inhibition de l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales et la stimulation de la croissance des bifidobactéries intestinales. Par exemple, l'utilisation des POS comme source de carbone entraîne une augmentation du nombre de bifidobactéries, de *Lactobacillus sp* et d'*Eubacterium rectale* (COMBO *et al.*, 2011).

I.2.2.3.-Xylanes

Les xylanes sont des polysaccharides complexes qui se composent d'un squelette de xylose lié à β -(1→4). Ils sont couramment substitués aux groupes 2-OH ou 3-OH par d'autres molécules telles que les groupes acétyle, les groupes 4-O-méthylglucuronyl ou l'arabinose (PURWANI *et al.*, 2016).

Récemment, les xylanes sont utilisés comme base de nouveaux biopolymères fonctionnels grâce à des modifications chimiques. Divers groupements fonctionnels peuvent être introduits dans les xylanes par estérisation, éthérisation et réticulation pour différentes applications, telles que l'administration de médicaments, le pansement et les agents

antimicrobiens. Par exemple, l'introduction d'une activité antioxydante aux xylanes pour des applications biomédicales pourrait être réalisée par estérification avec de l'acide ferulique et de l'acide sinapique (LIU *et al.*, 2015).

Les xyloglucanes sont les hémicelluloses majeurs dans les parois cellulaires des plantes supérieures. Elles ont une structure commune de D-glucane lié en β -(1 \rightarrow 4), et trois des quatre résidus de glucose sont substitués par des D-xylose lié en α -(1 \rightarrow 6). En fonction de la source des xyloglucanes, d'autres résidus de xyloses sont substitués par des résidus du D-galactose lié en β -(1 \rightarrow 2), qui à son tour est parfois substitué par des résidus d' α -fucosyl (LIU *et al.*, 2015).

I.2.3.-Gommes et mucilages

Les gommes et les mucilages, substances entre les quelles il n'y a pas de différence chimique précise, ont la propriété de gonfler au contact de l'eau et de former des masses gélatineuses ou des solutions colloïdales visqueuses. Les gommes sont fréquent chez les Rosaceae et les Fabaceae (gomme arabique, gomme adragante...). Tandis que les mucilages sont obtenus principalement à partir des graines ou d'autres parties des plantes. Certains sont obtenus à partir d'algues, et à partir de microorganismes sélectionnés (GUIGNARD, 2000; HASSAN *et al.*, 2015).

Les mucilages végétaux ont été largement explorés en tant qu'excipients pharmaceutiques et connus depuis l'antiquité pour leur usage médical. Ils sont largement utilisés dans l'industrie comme épaississants, des agents de rétention d'eau, des stabilisants d'émulsion, des gélifiants, des agents de suspension, des liants, des filmogènes et des agents de libération prolongée (HASSAN *et al.*, 2015).

I.2.3.1.- Gomme arabique

La gomme arabique (GA) est un exsudat collant comestible et sec d'*Acacia seyal* et *Acacia senegal* de la famille des Fabaceae, qui est riche en fibres solubles non-visqueux. Dû aux ses caractéristiques de forte solubilité dans l'eau, de sa faible viscosité, et de ses propriétés d'émulsification (KUCK et NORENA, 2016), elle est principalement utilisée dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique comme émulsifiant et conservateur. Dans l'Afrique du Nord et au Moyen-Orient, elle est utilisée comme agent d'hygiène par différentes communautés depuis des siècles (FEDAIL *et al.*, 2016).

La gomme arabique est utilisée dans la médecine classique arabe pour diminuer à la fois la fréquence et le besoin d'hémodialyse chez les patients souffrant des maladies chroniques d'insuffisance rénale. Elle a des fortes propriétés antioxydants comme elle est utilisée pour réduire la néphrotoxicité expérimentale contre la gentamicine et le cisplatine (AHMED *et al.*, 2016).

I.2.3.2.- Mucilage de chia

Le mucilage de chia, *Salvia hispanica* L. de la famille des Labiateae ou des Lamiaceae (ALI *et al.*, 2012), est principalement composée de xylose, de glucose et d'acide méthyl glucuronique, qui forment un polysaccharide ramifié de poids moléculaire élevé (allant de 0,8 à $2,0 \cdot 10^6$ Da) (DICK *et al.*, 2015).

Il a été observé que les graines de chia exsudent un gel mucilagineux transparent qui reste fortement lié au cortex, quand elles trempées dans l'eau. Ce mucilage a été décrit par l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture comme source potentiel des gommés polysaccharidiques en raison de ses propriétés mucilagineuses remarquables dans l'eau, même à une très faible concentration (DICK *et al.*, 2015).

Le mucilage de chia peut être utilisé dans l'industrie alimentaire en tant que stabilisant de mousse, agent de suspension, émulsifiant, adhésif ou liant. En raison de sa structure, il agit comme une fibre soluble et il possède des excellentes propriétés de rétention d'eau. Ainsi, le mucilage de chia pourrait fournir l'hydratation, le développement de la viscosité et la conservation de la fraîcheur, en particulier pour les produits de boulangerie (DICK *et al.*, 2015; FELISBERTO *et al.*, 2015).

I.3.- Activités biologiques des polysaccharides

Une grande attention est accordée aux polysaccharides en raison de leurs fonctions physiologiques et biologiques essentielles, telles que la protection anticoagulante, l'activité immunomodulatrice, l'activité antitumorale, l'activité antidiabétique et l'activité antioxydante. Des rapports récents ont révélé que les activités biologiques des polysaccharides sont étroitement liées à leur conformation en chaîne et leur structure; et compris la composition chimique, le poids moléculaire, et le degré de ramification. L'élucidation de la structure et la conformation est

nécessaire afin de mieux comprendre les fonctions biologiques des polysaccharides (FEDAIL *et al.*, 2016; HE *et al.*, 2017).

I.3.1.- Activité antioxydante

Les espèces réactives d'oxygène (ERO) sont des molécules chimiquement actives contenant l'oxygène, formées en tant que sous-produits naturels du métabolisme normal des rôles importants de l'oxygène (LIU *et al.*, 2013).

La production excessive des radicaux libres, y compris les ERO, entraîne un stress oxydatif qui est connue pour être associée au développement de nombreuses maladies (AMOO *et al.*, 2014). Le stress oxydatif est une condition caractérisée par un déséquilibre entre les molécules pro-oxydantes et les défenses antioxydants (AHMED *et al.*, 2016).

Les effets délétères du stress oxydatif résultent soit d'une augmentation de la production d'espèces réactives d'oxygène, soit d'une diminution de la capacité antioxydante des cellules naturelles d'un organisme. Cependant, l'apport d'aliments riches en antioxydants phytochimiques peut diminuer les effets nocifs causés par les dommages oxydatifs dans plusieurs tissus, y compris le foie, l'intestin et le rein (FEDAIL *et al.*, 2016). Les antioxydants peuvent réduire le stress oxydatif en cassant la réaction en chaîne oxydante, et protègent le corps contre des dommages oxydants (LIU *et al.*, 2013).

Les antioxydants peuvent être divisés en deux types; à savoir les antioxydants synthétisés chimiquement et les antioxydants naturels. Ces derniers ont attiré un intérêt croissant en raison de la préoccupation des consommateurs concernant la sécurité des antioxydants synthétiques dans les aliments (WU et HUANG, 2017).

AHMED *et al.* (2016) et FEDAIL *et al.* (2016) ont conclu qu'un traitement par la gomme arabique réduit la peroxydation des lipides et augmente les activités des enzymes antioxydants ovariennes et testiculaires de leur expression ARNm. Ainsi, la gomme arabique peut être utilisée dans la réduction du stress oxydatif et l'amélioration de la performance reproductive chez les patients diabétiques et obèses.

Les polysaccharides de *Poria cocos* Wolf, une plante médicinale chinoise de la famille des Polyporaceae, également connu sous le nom de Fu ling; ont montré une forte activité inhibitrice contre les dommages oxydants des rats porteurs de tumeurs cervicales traités par ces

polysaccharides pendant 40 jours. Ce traitement peut augmenter l'activité enzymatique antioxydante et le taux de glutathion réduit, ce qui est en relation avec l'activité *in vitro* de piégeage des radicaux libres de ces polysaccharides (JIA *et al.*, 2016).

JEDDOU *et al.* (2016) ont montré que les polysaccharides hydrosolubles des peaux de pommes de terre sont des antioxydants naturels utiles. En effet, la capacité de piégeage des radicaux DPPH (1,1' diphenyl-2-picryl hydrazyl), la puissance réductrice, les activités d'inhibition du blanchiment du β -carotène et l'activité de piégeage des radicaux ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)) montrent que ces polysaccharides sont des antioxydants efficaces *in vitro*, de manière dose-dépendante.

I.3.2.-Activité antidiabétique

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique grave caractérisée par une absorption délétère de glucose et une hyperglycémie, dus aux défauts dans la sécrétion de l'insuline ou de son action ou bien les deux (CHEN *et al.*, 2016; FEDAIL *et al.*, 2016).

Des études indiquent que certains polysaccharides n'augmentent pas la sécrétion d'insuline dans le corps, mais ils peuvent améliorer significativement l'activité de la glucokinase, de l'hexokinase et de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) dans le foie. Ils peuvent également réduire le taux de triglycérides et de cholestérol dans le plasma. Certains polysaccharides sont des agonistes des récepteurs β . Ils peuvent transmettre des informations aux mitochondries à travers un second messager, ce qui peut accélérer l'oxydation du glucose et finalement déboucher sur l'effet hypoglycémiant (SHI, 2016).

ZHANG *et al.* (2006) ont indiqué la capacité possible des polysaccharides d'*Artemisia sphaerocephala* Krasch de la famille des Asteraceae de diminuer la glycémie et des taux de cholestérol et de triacylglycérol dans le plasma pour le traitement du diabète.

Deux fractions de polysaccharides acides issus de tégument du fruit de *Camellia oleifera* A. de la famille des Theaceae CFPB et CFPA-3 ont montré une activité antidiabétique par l'inhibition de l'activité de l'enzyme α -glucosidase. Les concentrations inhibitrices de 50%(IC50) de l'effet d' α -glucosidase de CFPB et CFPA-3 sont 11,80 et 10,95 μ g/ml, respectivement (ZHANG et LI, 2015).

I.3.3.-Activité immunomodulatrice

Les plantes immunostimulantes, qui ont une action sur plusieurs facteurs de l'immunité extra et intracellulaire, sont le plus souvent des plantes contenant des polysaccharides spécifiques ayant une activité immunomodulatrice. Elles contiennent souvent d'autres molécules immunoactives et, en outre, des constituants montrant une activité sur les cellules tumorales. Les polysaccharides sont les constituants immunostimulants les plus efficaces (GOETZ, 2004).

Beaucoup de polysaccharides obtenus à partir des sources naturelles sont considérés comme modificateurs biologiques de réponse immunitaire et ont montré une augmentation de diverses réactions immunitaires (WIJESINGHE et JEON, 2012).

Les polysaccharides agissent sur l'arbre immunologique à divers niveaux tel que l'activité phagocytaire des macrophages et des granulocytes, la cytotoxicité des cellules Natural Killer, la transformation des lymphocytes B et sur la prolifération des lymphocytes T. Ils peuvent également activer le complément et la production d'anticorps (GOETZ, 2004; BACHELET, 2013).

Le développement de l'immunité par les polysaccharides immunostimulants permet de lutter contre les infections opportunistes dans certaines situations pathologiques, comme le sida, qui fragilise le système immunitaire. Elle peut aussi permettre aux personnes souffrant du cancer de mieux supporter la chimiothérapie (ANGONE *et al.*, 2010).

SHI, (2016) est montré qu'une fraction des polysaccharides de *Bupleurum falcatum* de la famille des Apiaceae a un effet anti-complémentaire remarquable plus fort que celle de l'héparine par sa forte inhibition des deux voies d'activation de complément; classique et alternative.

Des travaux sur *Trichilia emitica* subsp de la famille des Miliaceae; une plante utilisée en médecine traditionnelle au Mali, montrent que les polysaccharides isolés des feuilles de cette plante ont des effets biologiques sur le système du complément et sur la prolifération des lymphocytes T et B. Les polysaccharides extraits à l'eau chaude (~100 °C) contiennent des fractions actives enrichies en rhamnogalactanes avec les chaînes latérales des arabinogalactanes (ANGONE *et al.*, 2010).

Chapitre II

Matériel et méthodes

La méthodologie du travail porte sur le principe d'étude, le matériel d'étude et l'étude des polysaccharides hydrosolubles de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del.

II.1.-Principe d'étude

Les polysaccharides, une des classes principales des substances bioactives dans les champignons, les algues et les plantes supérieures (YU *et al.*, 2017), sont le groupe le plus abondant de biopolymères. Ils participent à de nombreux processus biologiques tels que la communication cellulaire et le développement embryonnaire (LIU *et al.*, 2015). Depuis longtemps, ils sont utilisés pour améliorer la texture, la rétention d'eau et la stabilisation des émulsions (JEDDOU *et al.*, 2016).

Les polysaccharides ont récemment reçu une attention considérable en tant que biomatériaux fonctionnels pour des applications nouvelles et pour des valeurs à ajouter, telles que des applications pharmaceutiques, biomédicales et cosmétiques en raison de leurs propriétés non toxiques, biocompatibles et biodégradables (LIU *et al.*, 2015). Ils ont une grande variété d'activités biologiques telles que les activités antitumorales, immunomodulatrices et antioxydantes (XU *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2017).

Le présent travail est porté sur l'étude des polysaccharides issus de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del., une plante spontanée à caractère médicinale. L'étude consiste une extraction hydrosoluble des polysaccharides et une détermination de la composition biochimique de l'extrait polysaccharidique par des méthodes colorimétriques, à savoir la détermination des teneurs en oses totaux, en oses neutres, en oses acides et en protéines. La caractérisation des polysaccharides est réalisée par une chromatographie sur couche mince (CCM) après une hydrolyse acide de l'extrait brut. Cette étude vise aussi vers l'évaluation de l'activité antidiabétique de l'extrait polysaccharidique par le test d'inhibition de l'enzyme α -glucosidase.

II.2.-Choix de la plante

Les Fabaceae ou légumineuses, constituent une des plus grandes familles des plantes à fleurs, y compris des arbustes et des plantes herbacées vivaces ou annuelles. Elle compte plus de 730 genres et 19400 espèces (MOREL, 2011; BOUAL *et al.*, 2015).

Le genre d'*Astragalus* est l'un des plus importants genres de la famille des Fabaceae qui sont actuellement utilisés en médecine traditionnelle. Plusieurs espèces d'*Astragalus* sont

utilisées grâce à leurs effets biologiques, tel que l'effet anti-inflammatoire, antioxydant, antidiabétique et antitumoral (HAN *et al.*, 2016; TIAN *et al.*, 2016). Ainsi, ils sont reconnus pour le traitement des troubles cardiovasculaires, des hémorroïdes, de l'asthme, de l'arthrite et contre les morsures de scorpion (CHEHMA et DJEBAR, 2008; TEYEB *et al.*, 2012; KHALFALLAH *et al.*, 2014). Face à ce constat, le présent travail s'oriente vers l'étude des polysaccharides issus de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del.

II.3.-Matériel d'étude

Le matériel d'étude regroupe les produits et l'appareillage (annexe 1 et 2). Ainsi, le matériel biologique présenté par la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del.

II.3.1.-Description botanique d'*Astragalus gyzensis* Del.

C'est une petite plante annuelle, entièrement hispide de couleur gris cendré. Elle est caractérisée par des tiges jaunes pailles, couchées mais robustes avec des fleurs blanches jaunâtres de 10 à 12 mm de longueur. Les folioles sont larges, dépassant 8 mm de largeur et les inflorescences sont lâches de 3 à 5 fleurs, à pédoncule en général plus court que la feuille correspondante. L'*A. gyzensis* Del. a des gousses étroites, fortement hirsutes, ne dépassant pas 5 mm, droites ou peu arquées, plus ou moins dilatées (QUEZEL, 1962; OZENDA, 1977).

La position systématique d'*A. gyzensis* Del. selon QUEZEL (1962) et OZENDA (1977) est la suivante:

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Embryophyta
Classe	Dicotyledoneae
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Astragalus</i>
Espèce	<i>Astragalus gyzensis</i> Del.

II.3.2.-Répartition géographique

Le genre *Astragalus* est considéré comme le plus grand genre en nombre de la famille des Fabaceae avec environ 2500 à 3000 espèces qui se retrouvent dans les régions arides et continentales de l'Ouest de l'Amérique du Nord (400 espèces) et en Asie centrale (2000-2500 espèces). D'autres espèces se retrouvent également en Amérique du Sud tempérée et au Nord, à l'Est et au Sud de l'Afrique (BOUAL *et al.*, 2015).

II.3.3.-Récolte et parties étudiées

La région de la récolte d'*A. gyzensis* Del. est la wilaya de Ghardaïa. Elle est située à environ 600 km au sud de la capitale Alger, et s'intègre dans la partie septentrionale de la plateforme saharienne à 32° 30' de latitude Nord et à 3° 45' de longitude (KEMASSI *et al.*, 2014).

Pour le présent travail, la gomme d'*A. gyzensis* Del. (Photo 1) est utilisée pour l'extraction et l'étude des polysaccharides hydrosolubles.



Photo 1.- Gomme d'*Astragalus gyzensis* Del.

II.4.-Etude des polysaccharides

L'étude des polysaccharides est basée sur la réalisation d'une extraction hydrosoluble, des dosages colorimétriques, l'identification des résidus glycosidiques et l'effet antidiabétique.

II.4.1.-Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Une quantité de 14.2g du broyat séché de la gomme d'*Astragalus gysensis* Del. est macérée dans 100ml d'eau distillée (LV *et al.*, 2017), pendant 2 heures à 80°C (HE *et al.*, 2017) sous agitation, une formation d'une masse collante est observée. Cette masse est mis dans 100ml d'éthanol à température ambiante (ZHU *et al.*, 2017) pendant une nuit. Après évaporation de l'éthanol, l'extrait prend l'aspect du miel. Par la suite, 100ml d'acétone sont ajoutés pendant 24h à 4°C. La solution est concentrée au 1/3 du volume initial, dans le rotavapor (AI *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2017). Le concentrât est récupéré puis lyophilisé (CHEN *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2016). Le lyophilisat obtenu (Fig. 1) représente l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles (HE *et al.*, 2014).

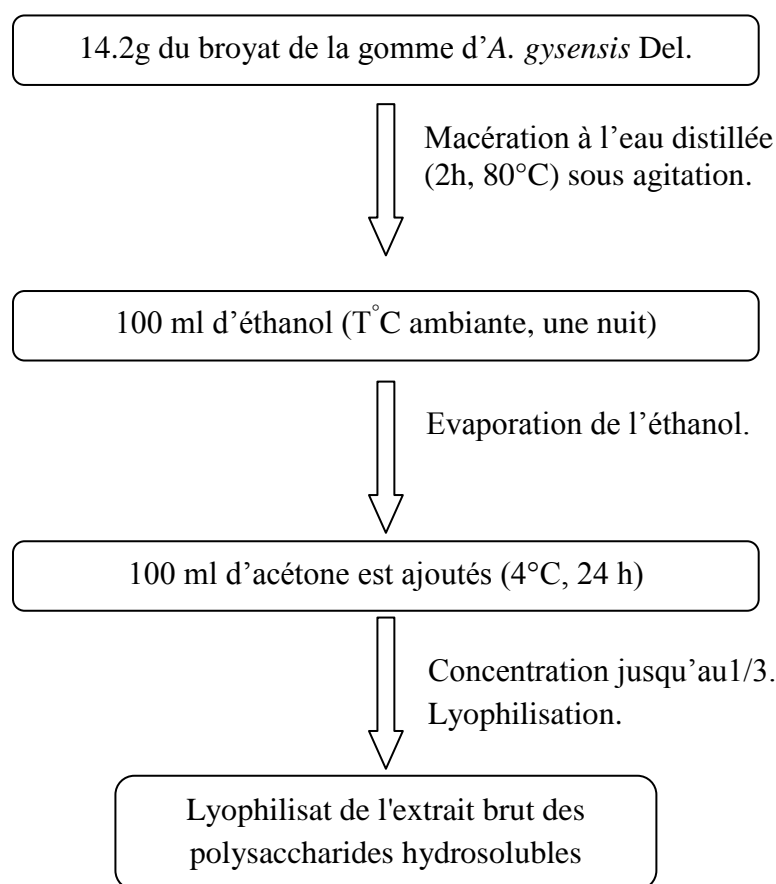


Figure 1.- Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosolubles (AI *et al.*, 2012; HE *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2016; HE *et al.*, 2017; LV *et al.*, 2017; ZHU *et al.*, 2017)

Le rendement de l'extraction des polysaccharides bruts sont calculés selon ROMDHANE *et al.* (2017) par la formule suivante:

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{\text{Poids du polysaccharide brut sec (g)}}{\text{Poids de la poudre sec de la plante (g)}} \times 100$$

II.4.2.-Composition de l'extrait polysaccharidiques

L'étude de la composition de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles consiste à déterminer les teneurs en oses totaux, en oses constitutifs neutres et acides, et la teneur en protéines, par des dosages colorimétriques.

II.4.2.1.-Dosage des oses totaux

La teneur en oses totaux dans l'extrait brut polysaccharidique d'*A. gyzensis* Del. est déterminée par la méthode phénol- acide sulfurique décrite selon DUBOIS *et al.* (1956).

II.4.2.1.1.-Principe

En présence de l'acide sulfurique concentré et à chaud, les liaisons glycosidiques sont hydrolysées. Une tétradéshydratation suivie d'une cyclisation des monosaccharides libérés donne des dérivés furfuraliques et des dérivés d'acide 5-formylfuroïque. Ces produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orangé. L'apparition de ces complexes est suivie par une mesure de l'absorbance à 490 nm qui permet de déterminer la concentration en oses totaux de l'échantillon analysé en se référant par projection à une courbe d'étalonnage $DO=f(c)$ dont le glucose est utilisé comme étalon (BRUDIEUX, 2007; BOUAL *et al.*, 2013a; BRIAN-JAISSON, 2014).

II.4.2.1.2.-Mode opératoire

Dans des tubes à essai en verre, 200 μ l de solution de polysaccharides à doser à 0.01% ont été mélangés avec 200 μ l de solution aqueuse phénol à 5%. Le mélange est ensuite homogénéisé par un agitateur et 1 ml d'acide sulfurique à 95% est ajouté en milieu réactionnel. Le mélange est porté au bain Marie à 100°C durant 5 min. les tubes sont refroidis dans un bain

de glace, puis placés à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est par la suite mesurée à 490 nm par un spectrophotomètre UV-visible (RUIZ, 2005).

II.4.2.2.-Dosage des oses neutres

Les oses neutres sont dosés par la méthode de MONSIGNY *et al.* (1988).

II.4.2.2.1.-Principe

Le dosage des oses neutres se repose sur la réaction des dérivés furfuriques obtenus par action à chaud d'un acide concentré comme l'acide sulfurique (DUBOIS *et al.*, 1956). En présence d'un composé aromatique tel que le résorcinol (1,3-dihydroxybenzène), ces dérivés furfuriques se condensent et donnent des composés de couleur orangée (MONSIGNY *et al.*, 1988).

II.4.2.2.2.-Mode opératoire

Dans un tube à essai en verre, 200 µl de résorcinol à 6% et 1 ml d'acide sulfurique concentré (95%), sont ajoutés à 200 µl de l'échantillon ou d'étalon. Les tubes sont agités et mis pour chauffer à 90°C dans un bain Marie pendant 30 mn et ensuite placés dans un bain d'eau froide pendant 30 mn à l'obscurité. L'absorbance de la solution est déterminée à 480 nm. La concentration en oses neutres est obtenue par référence à une gamme étalon du glucose (MONSIGNY *et al.*, 1988) de 0.001 à 0.01%.

II.4.2.3.-Dosage des oses acides

Le dosage des oses acides est réalisé selon la méthode décrite par BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN (1973).

II.4.2.3.1.-Principe

Le dosage repose sur la condensation, par estérification des dérivés furfuriques obtenus par action à chaud, d'un acide concentré comme l'acide sulfurique avec le méta-hydroxydiphényl. Les complexes formés de couleurs rose-rouge absorbent à 520 nm. La

concentration en oses acides est obtenue par référence à une gamme étalon d'acide glucuronique (MONSIGNY *et al.*, 1988; BRUDIEUX, 2007).

II.4.2.3.2.-Mode opératoire

Dans des tubes à essais en verre, 200 µl de solution à analyser est mélangés avec 1,2 ml de solution de tétraborate de sodium à 0.0125M dans l'acide sulfurique concentré. Après agitation, les tubes sont placés pendant 5 mn dans un bain de glace avant d'être placés dans un bain Marie à 100°C pendant 5min. Après refroidissement environ 10mn dans un bain de glace, 20 µl de solution de méta-hydroxydiphényl (m-HDP) est ajouté. Après agitation, une coloration rose se développe et l'absorbance est mesurée à 520 nm. Les concentrations en oses acides en peuvent être établies en comparaison avec une gamme d'étalonnage d'acide glucuronique (BRIAN-JAISSON, 2014) de concentration de 0.001 à 0.01%.

II.4.2.4.-Dosage des protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de BRADFORD (1976).

II.4.2.4.1.-Principe

En milieu acide, le réactif de Coomassie se lie aux chaînes latérales des acides aminés basiques et aux groupements aromatiques des protéines, provoquant la formation d'un complexe de coloration bleue qui absorbe entre 465 et 595 nm. Une courbe d'étalonnage est effectuée en utilisant du sérum albumine bovine (BSA) comme référence standard (WARRANT, 2004; LE ROUX, 2012).

II.4.2.4.2.-Mode opératoire

Le dosage est effectué selon la méthode micro BRADFORD (1976) adopté, 200µl de l'échantillon ou l'étalon est introduit dans un tube à essai en verre puis 2ml de bleu de Coomassie est ajouté. Après agitation, les tubes sont incubés au bain Marie à 37°C pendant 30 mn avant d'être refroidis à température ambiante pendant 20mn. La densité optique est mesurée à 595nm par un spectrophotomètre UV-Visible. La concentration en protéines est obtenue par référence avec une gamme étalon de sérum albumine bovine (BOUAL *et al.*, 2013b) de concentration de 0.001% à 0.01%.

II.4.3.-Caractérisation des résidus glycosidiques

Elle est réalisée par une hydrolyse acide suivie d'une chromatographie sur couche mince.

II.4.3.1.-Hydrolyse des liaisons glycosidiques

L'identification des monosaccharides constitutifs des polysaccharides nécessite la rupture de toutes les liaisons glycosidiques (RUIZ, 2005).

II.4.3.1.1.-Principe

Il consiste à hydrolyser l'échantillon à analyser par un acide. La dépolymérisation peut être conduite avec des acides de forces et de concentrations variables sous diverses conditions opératoires comme la température, le temps de réaction et selon la nature et la structure du polysaccharide. Parmi les acides employés à chaud pour l'étude, il y'a l'acide sulfurique, l'acide trifluoroacétique, et ainsi l'acide chlorhydrique (WANG *et al.*, 2004; BARBAT, 2009). L'acide trifluoroacétique est préféré à l'acide sulfurique car il présente de plus l'avantage d'être éliminé par une simple co-évaporation avec du méthanol (RUIZ, 2005). Le clivage des liaisons glycosidiques est réalisé à haute température (de 50 à 100 °C) par des acides forts dilués (hydrolyse ménagée) ou concentrés (DELATTRE, 2005).

II.4.3.1.2.-Mode opératoire

A un échantillon de 25 mg de lyophilisat de polysaccharides, 1 ml d'acide trifluoroacétique (TFA) de 2M est ajouté. Le tube est laissé dans l'étuve à 100°C pendant 4 h. Ensuite, le tube est refroidi au bain de glace et le surnageant est récupéré sur un verre de montre après une centrifugation à 4000 rpm pendant 15min. Après l'ajout de quelques gouttes de méthanol (99,7%), le verre de montre est déposé dans un dessiccateur sous hotte pendant 24h. Après séchage, 1ml de l'eau distillée est additionnée pour solubiliser les oses, puis récupérer dans un tube eppendorf de 1,5 ml (NIU *et al.*, 2011; AI *et al.*, 2012; YAN *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2016; YU *et al.*, 2017).

II.4.3.2.-Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les résidus monosaccharidiques libérés sont identifiés par chromatographie sur couche mince (CCM).

II.4.3.2.1.-Principe

C'est une méthode d'analyse quantitative permettant l'identification des composés organiques d'un mélange analysé (DELATTRE, 2005). Elle se base principalement sur des phénomènes d'adsorption. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse au long d'une phase stationnaire (gel de silice, polyamide, cellulose...) fixée sur une plaque de verre ou sur feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Chacun des solutés est soumis à une force de rétention par adsorption et une force d'entraînement par la phase mobile (DELATTRE, 2005; HAINQUE *et al.*, 2008). Les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Si un constituant est plus entraîné par l'éluant, il est moins adsorbé sur la phase stationnaire. Après migration les taches doivent être révélées. Étant donné que la CCM indique le nombre de composants d'un mélange (DELATTRE, 2005).

II.4.3.2.2.-Mode opératoire

Trois systèmes sont utilisés pour des plaques en gel de silice (HOTON-DORGE, 1976; CHENG *et al.*, 2010). Le choix du système est en fonction de la nature des oses à séparer et les rapports frontaux obtenus. Le Nigrum est utilisé comme révélateur pour les systèmes en gel de silice (GHEBREGZABEIER *et al.*, 1975).

➤ Préparation des phases mobiles

Trois phases mobiles représentées par trois systèmes différents sont choisis pour l'analyse chromatographique à savoir le premier système est constitué d'acétate d'éthyle, pyridine, eau, n-butanol, acide acétique dans les proportions 5-4-4-10-2 (HOTON-DORGE, 1976). Le deuxième système est formé de chloroforme, n-butanol, méthanol, acide acétique, eau (4,5-12,5-5-1,5-1,5) (CHENG *et al.*, 2010). Le troisième système est constituée d'acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau avec les proportions suivantes de 8,5-2-2-1,5 (HAN et ROBYT, 1998).

➤ Préparation des plaques chromatographiques

Pour les trois systèmes, les phases stationnaires sont des plaques en gel de silice prêtes à l'emploi de type Silica gel 60 F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, étalée sur une feuille d'aluminium. Les plaques sont entièrement utilisées. Une ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, puis activée dans l'étuve. Une fois activée, la plaque est prête pour le dépôt des échantillons (BOUAL *et al.*, 2013a).

➤ Préparation des cuves chromatographiques

La préparation des cuves est réalisée selon la méthode d'AUDIGIE *et al.* (1995), modifiée. La phase mobile est versée dans la cuve à une hauteur de 0,5 cm d'environ. La cuve est laissée fermée hermétiquement pendant 24h pour assurer une saturation maximale en vapeur de la phase mobile.

➤ Dépôt des hydrolysats et des étalons

A chaque 25 mg d'ose étalon (acide D-galacturonique, acide D-glucuronique, L-arabinose, D-fructose, D-galactose, D-glucose, D-mannose, L-rhamnose, saccharose D-xylose) est ajouté 2,5 ml d'eau distillée (BOUAL *et al.*, 2013b).

Une ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord inférieur des plaques, puis les solutions sont déposées à l'aide d'un applicateur, en utilisant une micropipette de 10 µl (AUDIGIE *et al.*, 1995; BOUAL, 2011).

➤ Développement des plaques

Les plaques sont placées dans les cuves de sorte que la ligne de dépôt soit au-dessus de la phase mobile. La cuve est ensuite fermée pour laisser les plaques se développer avec le temps, en évitant tout déplacement ou vibration des cuves pendant l'élution. Quand le solvant arrivera à 1cm du bord supérieur, les plaques sont retirées doucement et le front du solvant est marqué avec un crayon (DELATTRE, 2005).

Elles sont ensuite séchées à l'air libre et révélées par le Nigrum à l'aide d'un pulvérisateur. Les plaques sont incubées à l'étuve à 105°C jusqu'à l'apparition des spots colorés, pendant 15mn (BOUAL, 2011).

➤ Calcul des rapports frontaux

Le rapport frontal (R_f) est calculé pour chaque spot obtenu selon la formule

$$R_f = \frac{\text{La distance parcourue par la substance}}{\text{La distance parcourue par le solvant}} \times 100$$

Ceci permet la détermination de la composition monosaccharidique des extraits (DAVID et HAZEL, 1998).

II.4.4.-Activité antidiabétique

L'étude de l'activité antidiabétique des polysaccharides porte sur la détermination de leur pouvoir inhibiteur de l'enzyme α -D-glucosidase.

II.4.4.1.-Principe

La détermination d'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase (EC 3.2.1.20) est effectuée en utilisant le *p*-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (*p*-NPG) comme substrat, dont l'enzyme α -glucosidase catalyse sa dégradation en α -D-glucopyranoside et *p*-Nitrophénol (*p*-NP). Le test est basé sur la mesure de la libération de *p*-Nitrophénol (*p*-NP) de couleur jaune par spectrophotométrie à 405nm (BEN HENDA, 2014; KIM *et al.*, 2014; CUI *et al.*, 2015; HA *et al.*, 2016). Cette expérience est utilisée pour déterminer la diminution de la capacité de l'enzyme à hydrolyser leur substrat en présence de polysaccharide d'*A. gyzensis* Del. L'acarbose est utilisé comme un contrôle positif, alors que l'eau distillée est utilisée comme contrôle négatif.

II.4.4.2.-Mode opératoire

L'activité antidiabétique des polysaccharides d'*A. gyzensis* Del. est déterminée en utilisant une méthode de l'inhibition de l'enzyme α -D-glucosidase tel qu'est décrit par OKI *et al.* (1999), BISHT *et al.* (2013) et QIAN *et al.* (2015) avec une légère modification.

Dans un tube sec, un volume de 500 μ l de solution de α -D-glucosidase (0,2U/ml) est ajouté à 10 μ l de différentes concentrations de polysaccharides (2.5mg/ml à 100mg/ml) ou d'acarbose (0,001M à 0,1M) (Tableau 1). Le mélange résultant est incubé à 37°C pendant 15min sous agitation, puis un volume de 125 μ l de *p*-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (*p*-NPG) est additionné. Après 2min d'incubation, La lecture des densités optiques sont effectuées chaque

12sec pendant 3min à 405nm par un spectrophotomètre UV-visible (ZHANG et LI, 2015; CUI *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2017).

Tableau 1.- Préparation du test antidiabétique

	Contrôle négatif (µl)	Contrôle positif (µl)	Echantillon (µl)
<i>p</i> -NPG	125	125	125
Alpha-D-glucosidase	500	500	500
Eau distillée	10	/	/
Acarbose	/	10	/
Extrait des polysaccharides d' <i>A. gyzensis</i>	/	/	10

L'activité inhibitrice de l'enzyme α -D-glucosidase est calculée d'après la formule suivante (CUI *et al.*, 2015; ZHANG et LI, 2015; LI *et al.*, 2017):

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{\Delta A \text{ controle}(-) - \Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ controle}(-)} \times 100$$

Où:

- ΔA contrôle (-) : $A_{1\text{contrôle}(-)} - A_{0\text{contrôle}(-)}$
- ΔA échantillon : $A_{1\text{échantillon}} - A_{0\text{échantillon}}$

Chapitre III

Résultats et discussion

Au vu des résultats obtenus, une seule fraction polysaccharidique est isolée après une extraction hydrosoluble des polysaccharides de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del. L'étude biochimique de la fraction retenue est réalisée par des dosages colorimétriques, une chromatographie sur couche mince et l'évaluation de son pouvoir inhibiteur de l' α -D-glucosidase.

III.1.-Rendement d'extraction des polysaccharides

Le rendement relatif est calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction (MOURADI *et al.*, 2006). Il apparaît que le rendement massique de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles de la gomme d'*A. gyzensis* Del. par rapport à la matière sèche est de 8,10 %. Ce rendement est inférieur à celui trouvé par ZHANG *et al.* (2011), soit de 10.73% d'un extrait d'hétéropolysaccharides à partir d'*Astragalus mongholicus*. Par contre, il est supérieur de celui obtenu par BOUAL *et al.* (2015) soit de 4.21% de polysaccharides hydrosolubles d'*Astragalus armatus*.

CHEN *et al.* (2015) ont remarqué un rendement de 3.80% par rapport à la matière sèche des racines d'*Astragalus membranaceus*. Tandis que FU *et al.* (2013) rapportent un rendement de 15.29 % de polysaccharides hydrosolubles bruts à partir des racines de la même plante.

OLENNIKOV et ROKHIN ont étudié trois espèces du genre *Astragalus*. En 2008, ils ont noté un rendement de 8.50% d'un extrait de polysaccharides hydrosolubles pour les graines d'*A. sericeocanus*. En 2011, ils ont signalé des rendements de 1.36% et 10.42% des extraits polysaccharidiques hydrosolubles à partir des graines d'*A. alpinus* et d'*A. tibetanus* respectivement.

Le rendement des polysaccharides peut varier en fonction de des facteurs environnementaux et des conditions climatiques (KAEWMANEE *et al.*, 2014). Par ailleurs, le type de polysaccharide et la procédure d'extraction comme la décoction, la macération, le type et la quantité de solvant, agissent sur le rendement massique de polysaccharides hydrosolubles (EBRINGEROVA *et al.*, 2003). De même, KAUSHIK *et al.* (2017) ont signalé que la température d'extraction a un effet significatif sur le rendement polysaccharidique. Ainsi, le temps représente l'un des facteurs affectant le rendement massique de l'extraction (MIAO *et al.*, 2011).

III.2.-Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble

La composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble de la gomme d'*A. gyzensis* Del. est montrée dans la figure 1. Les teneurs en oses totaux, en oses neutres, en oses acides et en protéines de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble de la gomme étudiée sont de $32,97 \pm 0,03\%$, $23,62 \pm 0,04\%$, $13,60 \pm 0,01\%$ et $15,91 \pm 0,002\%$ respectivement.

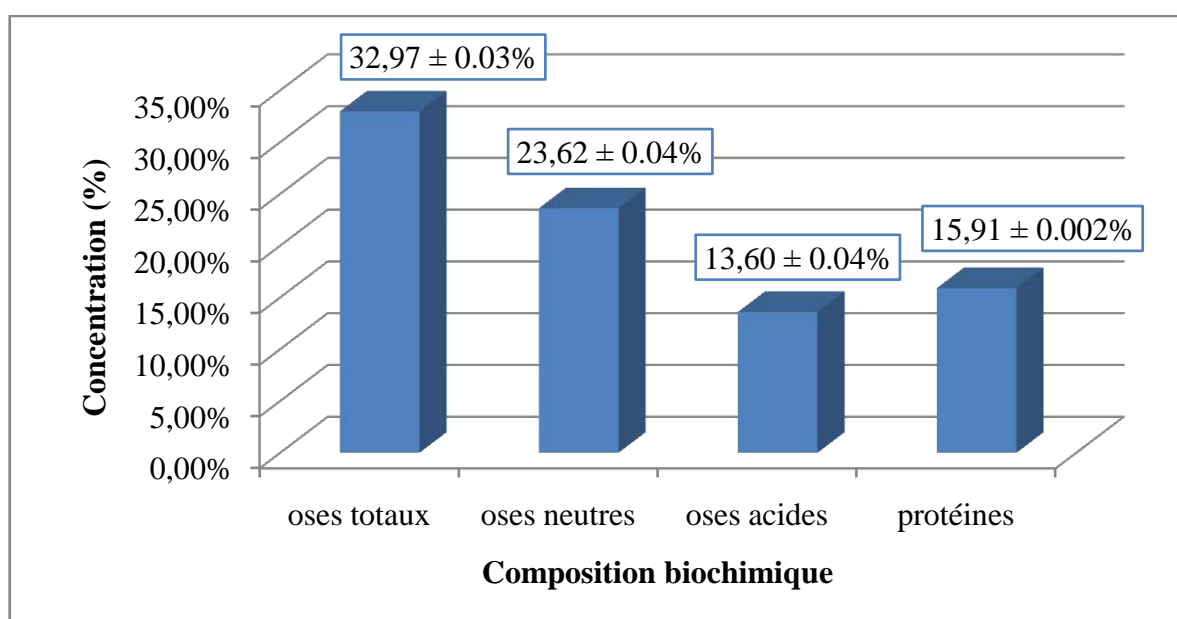


Figure 2.- Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique de la gomme d'*A. gyzensis* Del.

GORJI *et al.* (2014) rapportent une teneur de 84.55% en oses totaux et 2.20% en protéines pour la gomme d'*Astragalus gossypinus*. La gomme d'*Acacia tortuosa* contient 51% oses totaux et 42% protéines (MARTINEZ *et al.*, 2015). BOUAL *et al.* (2015) rapportent pour *Astragalus armatus* un taux d'oses neutres de $83.42 \pm 1.29\%$ et un taux de protéines de $1.96 \pm 0.78\%$ mais un taux négligeable d'oses acides.

La teneur en oses totaux des trois fractions polysaccharidiques des racines d'*Astragalus membranaceus*; APs-1-1, APs-2-1 et APs-3-1 sont de 93.2%, 89.5% et 86.7% respectivement. Ces fractions APs-1-1, APs-2-1 et APs-3-1 contiennent 3.1%, 1.9% et 1.3% de protéines, respectivement. La composition en acide uronique dans les fractions APs-2-1 et APs-3-1 est 5.9% et 11.6%, respectivement (CHEN *et al.*, 2015). Un taux de protéines de $1.10 \pm 0.11\%$ est signalé par NUI *et al.* (2011) pour des polysaccharides de racines de la même plante.

VASIL *et al.* (2016) ont noté des tenures de $61,62 \pm 0,09\%$ et $65,20 \pm 0,58\%$ en oses totaux et $13,033 \pm 0,33\%$ et $1,37 \pm 0,04\%$ en protéines des polysaccharides hydrosolubles issus de la gomme de *Prosopis alba* et de la gomme arabique, respectivement. PAWAR *et al.* (2014) trouvent un taux de 92.06% d'oses totaux pour la gomme de *Senna tora*.

III.3.-Caractérisation qualitative des extraits polysaccharidiques

Après l'hydrolyse acide de l'extrait polysaccharidique par l'acide trifluoroacétique, l'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince est réalisée afin de caractériser l'hydrolysate de polysaccharides bruts isolés de la gomme d'*A. gyzensis* Del. La comparaison des rapports frontaux des taches apparues avec ceux des étalons détermine la nature des oses constitutifs.

Le système I montre l'apparition de trois spots d'ose de R_f de 0.353, 0.455 et 0.544. Les taches semblent homologues au glucose (0.365), à l'arabinose (0.422) et au xylose (0.540). Tandis que le système II donne quatre spots d'ose de R_f de 0.314, 0.413, 0.506, et 0.574. Les taches semblent correspondre au galactose (0.327), à l'arabinose (0.404), au xylose (0.500) et au rhamnose (0.580). Le système III révèle trois spots d'ose de R_f de 0.664, 0.759 et 0.824. Ces taches semblent homologues à l'arabinose (0.638), au xylose (0.722) et au rhamnose (0.835).

Un accord des résultats est présenté spécifiquement pour l'arabinose et le xylose dans les trois systèmes, ainsi que pour le rhamnose dans les systèmes II et III. Tandis que des taches n'apparaissent que dans un seul système; soit le glucose dans le système I et le galactose dans le système II.

L'acide galacturonique et l'acide glucuronique montrent une faible migration avec un R_f de 0.067 et de 0.092 respectivement, dans le système II et un R_f de 0.082 pour l'acide galacturonique dans le système III. Alors que, l'arabinose et le mannose ont des R_f plus proches de 0.422 et 0.420 dans le système I et R_f de 0.404 et 0.401 dans le système II, respectivement. Donc, on remarque une complémentarité des trois systèmes pour la détermination de la composition monosaccharidique probable de la gomme étudiée.

Les chromatogrammes montrent un mélange des oses neutres et acides, pentoses et hexoses. On remarque l'existence des taches larges et denses de coloration verdâtre qui correspondent à l'arabinose, aussi des taches moins denses de xylose et des taches plus claires et moyennement larges de rhamnose, de glucose et de galactose. Cela laisse suggérer la présence d'un arabinoxylane.

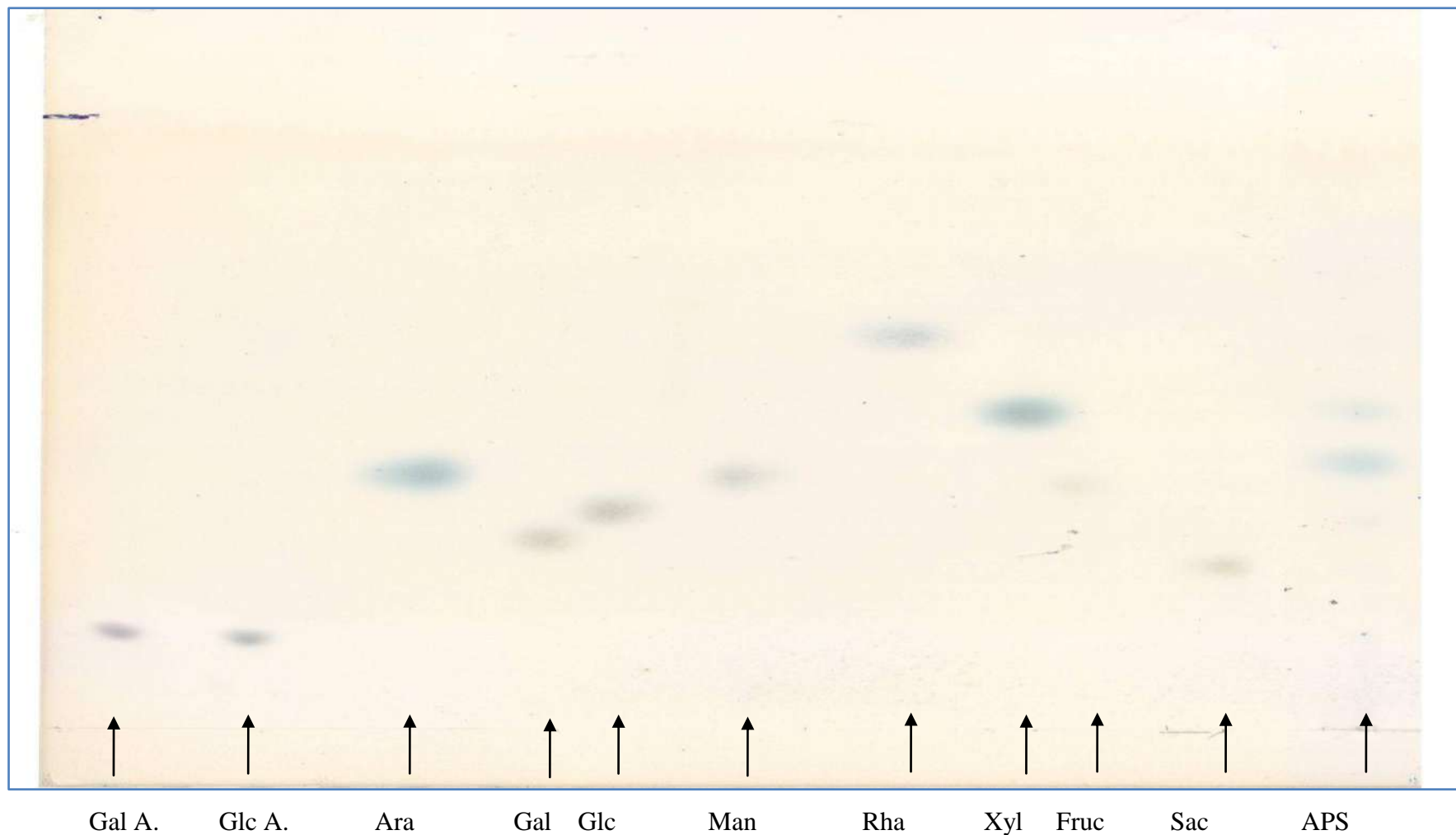


Figure 3.-Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d'*A.gyzensis*Del.[Système 1: d'acétate d'éthyle, pyridine, eau, n-butanol, acide acétique:5-4-4-10-2(v/v)]

APS: fraction polysaccharidique Gal A.: acide D-galactoronique. Glc A.: acide D-glucuronique Ara: L-arabinose. Gal: D-galactose. Glc: D-glucose. Man: D-mannose. Rha: L-rhamnose. Xyl: D-xylose. Fruc: D-fructose. Sac: saccharose.

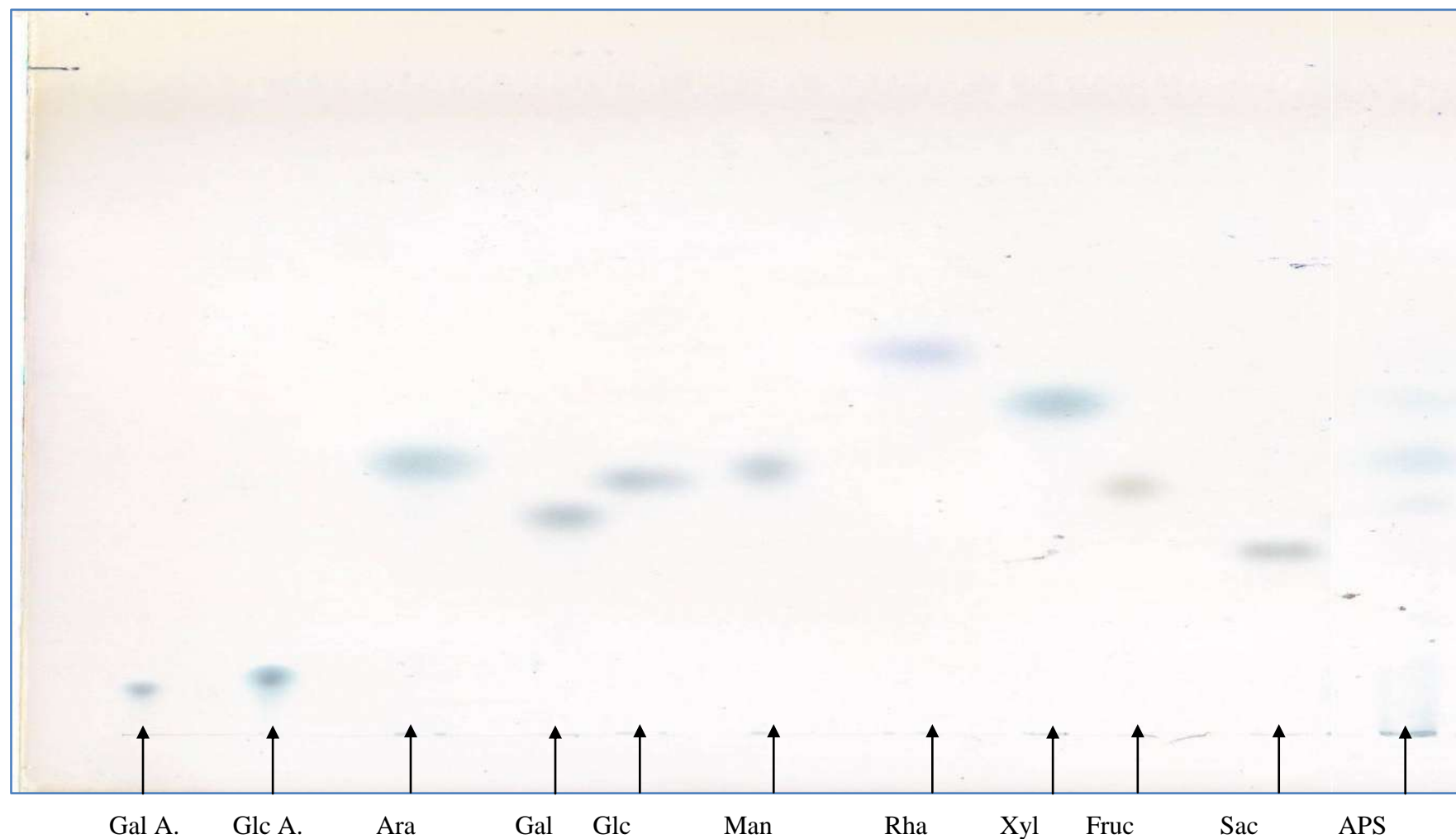


Figure 4.-Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d'*A.gyzensis*Del.[Système 2: de chloroforme, n-butanol, méthanol, acide acétique, eau:4,5-12,5-5-1,5-1,5 (v/v)]

APS: fraction polysaccharidique Gal A.: acide D-galactoronique. Glc A.: acide D-glucuronique. Ara: L-arabinose. Gal: D-galactose. Glc: D-glucose. Man: D-mannose. Rha: L-rhamnose. Xyl: D-xylose. Fruc: D-fructose. Sac: saccharose.

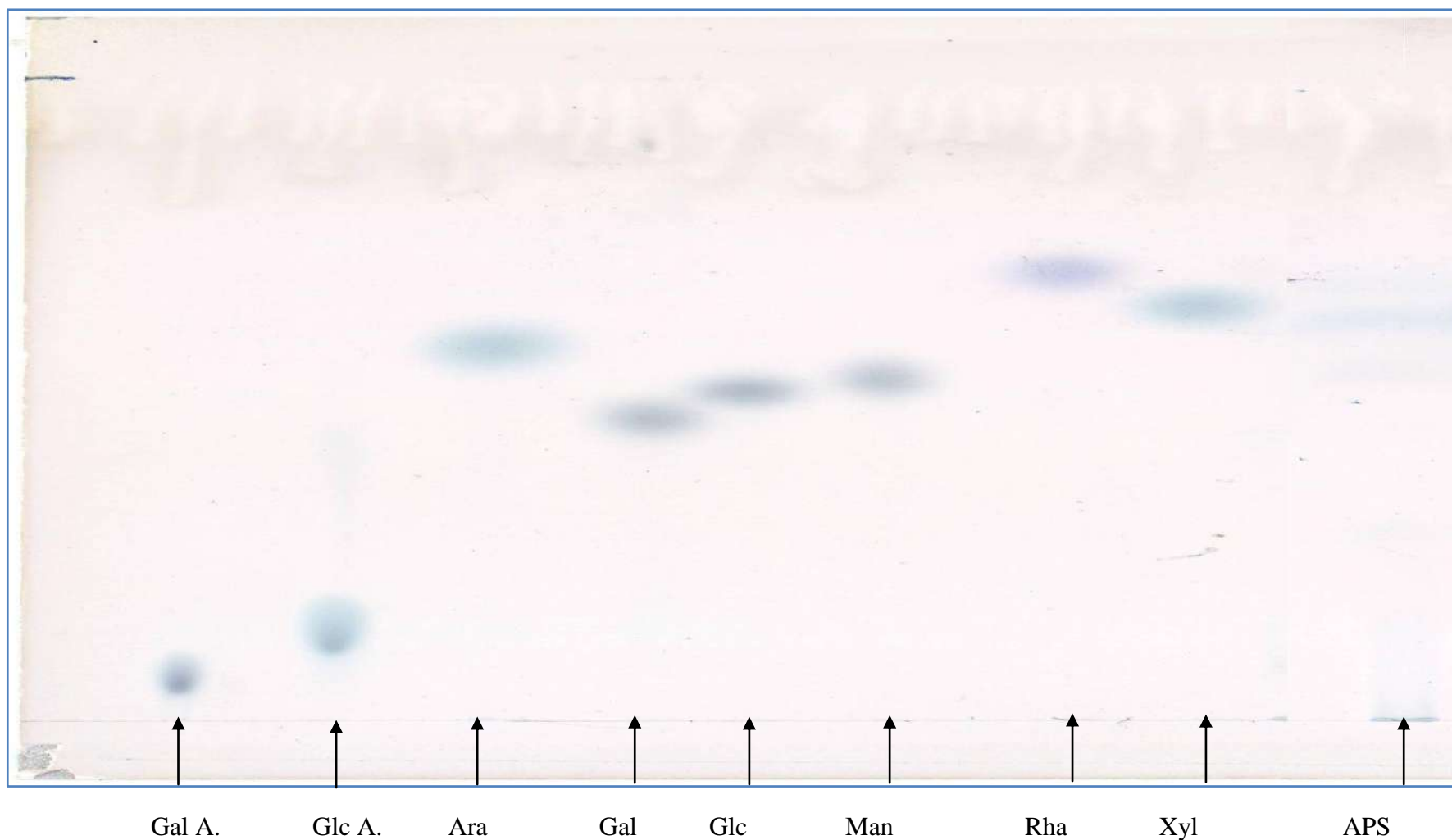


Figure 5.-Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d'*A.gyzensis* Del. [Système 3: d'acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau: 8,5-2-2-1,5 (v/v)]

APS: fraction polysaccharidique Gal A.: acide D-galactoronique. Glc A.: acide D-glucuronique. Ara: L-arabinose. Gal: D-galactose. Glc: D-glucose. Man: D-mannose. Rha: L-rhamnose. Xyl: D-xylose.

Donc, l'extrait brut des polysaccharides de la gomme d'*A. gyzensis* Del. renferme un hétéropolysaccharides, constitués majoritairement d'arabinose, de xylose, de rhamnose, de galactose et de glucose.

Ces résultats semblent proches à ceux de GAVLIGHI *et al.* (2013) qui ont signalé que la gomme d'*Astragalus sp* est constituée d'acide galacturonique, d'arabinose, de fucose, de galactose, de glucose, de rhamnose et de xylose. Les polysaccharides de la gomme d'*Astragalus. gossypinus* sont composés de 37% acide galacturonique, 32% xylose et 23% fucose (GORJI *et al.*, 2014). Tandis que LV *et al.* (2017) ont trouvés que l'extrait polysaccharidique des racines d'*Astragalus. membranaceus* est constitué de rhamnose, de glucose, de galactose et d'arabinose après une analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Le Tragacanthine, une fraction des polysaccharides hydrosolubles issue de la gomme adragante, représente 30 à 40% des polysaccharides contenant le L-arabinose, le L-fucose, le D-mannose, le D-glucose, le D-galactose et le D-xylose. Tandis que la fraction insoluble dans l'eau nommée Bassorin, représente 60 à 70% et constitué principalement de L-fucose, D-xylose, D-acide glucuronique, D-galactose et L-rhamnose. (GHAYEMPOUR *et al.*, 2015).

III.4.-Activité antidiabétique

La figure 4 présente les pourcentages d'inhibition (%) de l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose et de l'extrait polysaccharidique.

L'extrait polysaccharidique de la gomme d'*A. gyzensis* Del. a un faible pouvoir inhibiteur de l' α -D-glucosidase. Le pourcentage d'inhibition des polysaccharides est de 58,66% pour une concentration maximale de 100 mg/ml et de 9,33% pour une concentration minimale de 5 mg/ml. Néanmoins, l'acarbose a un pouvoir inhibiteur de 100% à partir de la concentration de 6,456mg/ml, et une inhibition de 5.66% à la concentration de 0,064 mg/ml. Il est remarqué que, pour l'acarbose et l'extrait des polysaccharides, les pourcentages d'inhibitions augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations.

BISHT *et al.* (2013) ont signalé que les polysaccharides issus de la gomme d'*Acacia tortilis* ont des pourcentages d'inhibition dose dépendante de l'enzyme α -D-glucosidase, dont un pourcentage d'inhibition maximale de 76,77% à une concentration de 5 mg/ml.

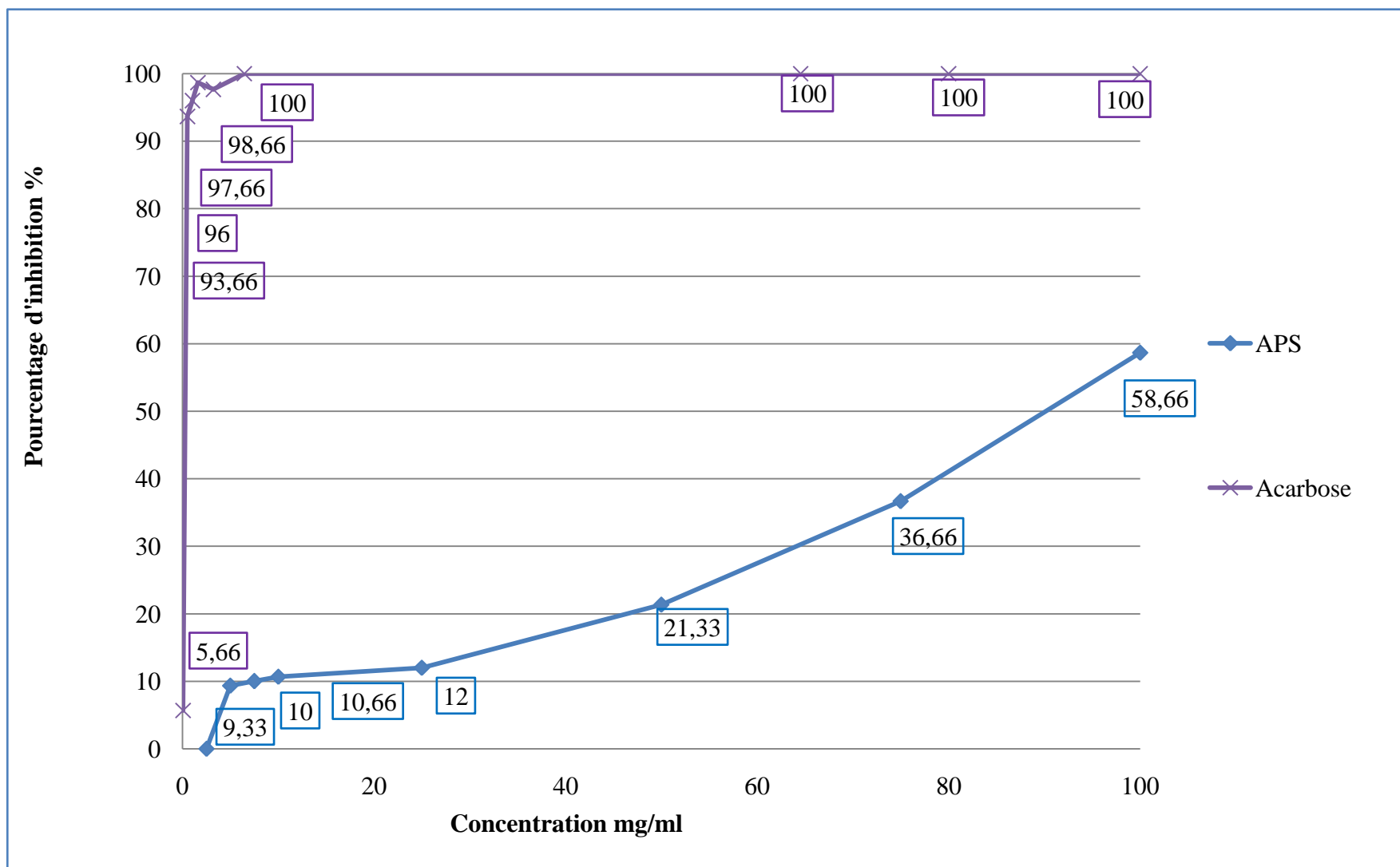


Figure 6.- Pourcentages d'inhibition (%) de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose et de l'extrait polysaccharidique

JARADAT *et al.* (2017) ont montré que *Astragalus aleppicus* Boiss., *Astragalus angustifolius* Lam., *Astragalus annularis* Forssk., et *Astragalus boeticus* L. sont parmi les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle de Palestine pour traiter le diabète. ZHU *et al.* (2016) ont noté qu'un extrait polysaccharidiques d'*Astragalus sp* possède un effet inhibiteur dose dépendante de l'enzyme α -glucosidase, soit un pourcentage maximal d'inhibition de 49% à une concentration de 1.5mg/ml.

Selon les résultats obtenus, il est constaté que la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del. n'a pas d'effet considérable sur l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

La présente étude des polysaccharides hydrosolubles issus de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del. récoltée dans la région de Ghardaïa située au Sahara septentrional Est algérien, débute par une macération, une précipitation puis une lyophilisation. L'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles obtenus, se compose d'une seule fraction avec un rendement massique de 8.10%.

Après réalisation des dosages colorimétriques, l'étude de la composition globale de l'extrait isolé donne des valeurs moyennes allant de $32,97 \pm 0,03\%$ pour les oses totaux, $23,62 \pm 0,04\%$ pour les oses neutres, $13,60 \pm 0,01\%$ pour les oses acides. En comparant ces résultats à ceux de la bibliographie, il semble que la teneur en oses totaux, reste faible. Ce faible taux en oses totaux peut être expliqué par la présence d'autres constituants, tels que des sels minéraux, des lipides, des polyphénols ou des flavonoïdes. Parallèlement, il faut signaler qu'une trace de protéines a été détectée dans l'extrait polysaccharidique, avec un taux de $15,91 \pm 0,002\%$, malgré des processus d'élimination adaptés qui consistent à faire plusieurs extractions successives pour épuiser leurs traces.

Après l'hydrolyse acide de l'extrait polysaccharidique par l'acide trifluoroacétique, l'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince est réalisée afin de caractériser l'hydrolysate de polysaccharides bruts isolés de la gomme d'*A. gyzensis* Del. Il fait appel à 3 systèmes différents de séparation. Ainsi, pour le système I, il est noté trois spots d'oses avec des R_f de 0.353, 0.455 et 0.544. Les taches semblent homologues respectivement au glucose (0.365), à l'arabinose (0.422) et au xylose (0.540). Le système II donne quatre spots d'oses avec des R_f de 0.314, 0.413, 0.506, et 0.574. Elles correspondent respectivement au galactose (0.327), à l'arabinose (0.404), au xylose (0.500) et au rhamnose (0.580). Quand au système III, il révèle trois spots d'ose avec des R_f de 0.664, 0.759 et 0.824. Ces taches semblent homologues à l'arabinose (0.638), au xylose (0.722) et au rhamnose (0.835).

L'étude de la composition en monosaccharides a révélée la présence d'arabinose, de xylose, de rhamnose, de galactose et de glucose. Toutefois, les chromatogrammes laissent apparaître l'existence de larges taches de coloration plus intenses. Elles correspondent à celles de l'arabinose et du xylose. Ceci laisse suggérer qu'il s'agit bien de la présence d'un arabinoxylane.

Le test de l'activité antidiabétique révélé par la mesure du pouvoir inhibiteur de l'enzyme α -D-glucosidase, montre que l'extrait des polysaccharides présente un faible pouvoir inhibiteur de cet enzyme. Il est de 58,66% pour une concentration maximale de 100 mg d'extrait des polysaccharides/ml de solution. Il est remarqué que pour l'extrait des polysaccharides, les pourcentages d'inhibitions augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations, donc à dose dépendante.

Perspectives

Pour une meilleure étude des polysaccharides d'*Astragalus gyzensis* Del., il est proposé d'optimiser les conditions d'extraction, à savoir la température, le temps d'extraction, le type et le pourcentage d'alcool-eau utilisé. Pareillement, afin de confirmer les résultats obtenus par la CCM, on suggère de faire appel à des techniques plus avancées comme la HPAEC-PAD pour caractériser précisément les résidus glycosidiques constitutifs. De même, l'analyse structurale par spectrométrie de masse (SM) et par la résonance magnétique nucléaire (RMN), reste à suivre pour connaître la relation structure-fonction.

Dans le but de mieux évaluer l'activité antidiabétique testée des polysaccharides obtenus, il est souhaitable de les purifier et de les fractionner. Cela va permettre une précision des structures polysaccharidiques exactes et une élévation possible de l'activité essayée. Ainsi, il est conseillé de réaliser des autres tests biologiques indiqués par la pharmacopée traditionnelle ou par la structure chimique précise. Comme il est aussi recommandé de viser des caractéristiques rhéologiques probables liées à la nature structurale de la gomme étudiée.

Références bibliographiques

1. AHMED A.A., FEDAIL J.S., MUSA H.H., MUSA T.H and SIFALDIN A.Z., 2016- Gum Arabic supplementation improved antioxidant status and alters expression of oxidative stress gene in ovary of mice fed high fat diet. Middle East Fertility Society Journal, vol. 21:101–108.
2. AI L., WU J., CHE N., WU Y and CUI S. W., 2012- Extraction, partial characterization and bioactivity of polysaccharides from boat-fruited *sterculia* seeds. International Journal of Biological Macromolecules. vol, 51: 815-818.
3. ALI N.M., YEAP S.K., HO W.Y., BEH B.K., TAN S.W and TAN S.G., 2012-The Promising Future of Chia, *Salvia hispanica* L. Journal of Biomedicine and Biotechnology. vol, 2012: 9p.
4. AMOO S.O., AREMU A.O and STADEN J.V., 2014- Unraveling the medicinal potential of South African Aloe species. Journal of Ethno pharmacology, vol. 153:19-41.
5. ANGONE S.A., NGUEMA –ONA E. et DRIOUICH A., 2010- La thérapie par les plantes en Afrique : activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale. Phytothérapie, vol. 8:223–30.
6. AUDIGIE C., DUPONT G. et ZONZAIN F., 1995- Principe des méthodes d'analyse biochimique, 2ème Edition. Ed. Biosciences et Technique, Paris. 44-56p.
7. BACHELET B., 2013.- Impact de la phytothérapie sur le système immunitaire. Ed. Faculté de médecine de Créteil: 15-17p.
8. BARBAT L, 2009- Extraction, caractérisation chimique et valorisation biologique de glucuronoxylanes de bois de châtaignier. Développement de nouveaux procédés de délignification. Thème doctorat. Université de Limoges. 45p.
9. BEN HENDA Y., 2014- Bioactivités de cryptides marins : Quels potentiels pour la santé humaine .Thème doctorat. Université de la Rochelle.186p.
10. BISHT S., KANT R and KUMAR V., 2013 - α -d-Glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from *Acacia tortilis* gum exudate. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 59: 214-220.
11. BLUMENKRANTZ N. and ASBOEHANSEN G., 1973- New Method for Quantitative Determination of Uranic Acid. Analytical biochemistry, vol. 54: 484-489.
12. BOUAL Z., KEMASSI A., HAMID OUDJANA A., MICHAUD P and OULD EL HADJ M. D., 2013b- Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parviflora* l. (malvaceae): activité prébiotique. Lebanese Science Journal, vol.14: 41-51.

13. BOUAL Z., KEMASSI A., HAMID OUDJANA A., MICHAUD P and OULD ELHADJ M.D., 2013a-Caractérisation physico-chimique et biochimique des bulbes d'*Urginea noctiflora* (Liliaceae) récoltée dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérie): Activités antioxydantes et antimicrobiennes. *Phyto Chem et Bio Sub Journal*, vol. 7 : 2170-1768.
14. BOUAL Z., KEMASSI A., MICHAUD P and OULD EL HADJ M. D., 2011-Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*asphodelust enuifolius cavan* (liliaceae): effet prébiotique des oligosaccharides issus de l'hydrolyse des polysaccharides. *Algerian journal of aridenvironment*, vol. 1: 52-60.
15. BOUAL Z., PIERRE G., DELATTRE C., BENAOUN F., PETIT E., GARDARIN C ., MICHAUD P and OULD ELHADJ M.D.,2015-Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as asource of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 5: 10-18.
16. BRADFORD M. M., 1976- A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical biochemistry*, vol. 72: 248-254.
17. BRIAN-JAISSON F., 2014- Identification et caractérisation des exo-polymères de biofilms de bactéries marines. Thème doctorat. Université de Toulon. 257p.
18. BRUDIEUX V., 2007- Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thème doctorat. Université de Limoges. 193p.
19. CHANDRASHEKARA P.M and VENKATESH Y.P., 2016-Immunostimulatory properties of fructans derived from raw garlic (*Allium sativum* L.).*Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 8: 65–70.
20. CHEHMA A et DJEBAR M.R., 2008-Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. Synthèse: *Revue des Sciences et de la Technologie*, vol. 17 : 36-45.
21. CHEN R.Z., TAN L., JIN C.G., LU J., TIAN L., CHANG Q.Q and WANG K., 2015-Extraction, isolation, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Astragalus membranaceus*. *Industrial Crops and Products*, vol. 77: 434-443.
22. CHEN Y.F., JIANG W.W., ZHANG S.Q., KAN J.Q and LIANG Y., 2016- Antioxidant Activity and Characterization of One New Polysaccharide Obtained from *Perigord Truffle (Tuber huidongense)*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol.2016:7p.

23. CHEN Y.X., LIU X.Y., XIAO Z., HUANG Y.F and LIU B., 2016- Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 91: 505-509.
24. CHENG Y., JIA G., JIANG-SHENG Z and SHAO-PING L., 2010- Use of HPTLC to Differentiate Among the Crude Polysaccharides in Six Traditional Chinese Medicines. *Journal of Planar Chromatography*, vol. 23: 46-49.
25. CIOCI G., 2006-Etude structure-fonction de glycoconjugués et de lectines bactériennes et fongiques. Thème doctorat. Université de Joseph FOURIER.81p.
26. CLAISSE N., 2012- Préparation et modification d'oligosaccharides de cellulose par chimie douce bio-inspirée. Thème doctorat. Université de GRENOBLE.285 p.
27. COMBO A. M. M., AGUEDO M.et PAQUOT M., 2011- Les oligosaccharides pectiques : production et applications possibles. *Biotechnol Agron Soc Environ*, vol.15: 153-164.
28. CUI J., GU X., WANG F., OUYANG J and WANG J., 2015- Purification and structural characterization of an α -glucosidase inhibitory polysaccharide from apricot (*Armeniaca sibirica* L. Lam.)pulp. *Carbohydrate Polymers*, vol. 121:309–314.
29. DAVID J. H., and HAZEL P., 1998.- *Analytical biochemistry*, 3ème Edition. Ed. Prentice Hall, Angleterre: 336p.
30. DELATTRE C., 2005- Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thème doctorat. Université de Picardie Jules Verne, Valois Santerre. 172p.
31. DETERS A. M., LENGSELD C and HENSEL A. 2005- Oligo- and polysaccharides exhibit a structure-dependent bioactivity on human keratinocytes in vitro. *Journal of Ethnopharmacology* , vol. 102:391–399.
32. DICK M., COSTA T.M.H., GOMAA A., SUBIRADE M., RIOS A.O and FLORES S.H., 2015-Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, vol. 130: 198-205.
33. DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. K., PEBERS P. A., and SMITH F., 1956- Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, vol. 28: 350-356.
34. EBRINGEROVA A., KARDOSOVA A., HROMADKOVA Z and HRIBALOVA V., 2003- Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, vol.74: 52-61.

35. FEDAIL J.S., AHMED A.A., MUSA H.H., ISMAIL E., SIFALDIN A.Z and MUSA T.H., 2016- Gum arabic improves semen quality and oxidative stress capacity in alloxan induced diabetes rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, vol.5: 434-441.
36. FELISBERTO M.H.F., WAHANIK A.L., GOMES-RUFFI C.R., CLERICI M.T.P.S., CHANG Y.K and STEEL C.J., 2015-Use of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes. *Food Science and Technology*, vol. 63: 1049-1055.
37. FLOCH A.L., JOURDES M and TEISSEDRE P.L., 2015- Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. *Carbohydrate Research*, vol. 417:94–102.
38. FU J., HUANG L., ZHANG H., YANG S and CHEN S., 2013- Structural features of a polysaccharide from *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. *Journal of Asian Natural Products Research*, vol. 15: 687–692.
39. GAVLIGHI H.A., MEYER A.S., ZAIDEL D.N.A., MOHAMMADIFAR M.A and MIKKELSEN J.D., 2013- Stabilization of emulsions by gum tragacanth (*Astragalus spp.*) correlates to the galacturonic acid content and methoxylation degree of the gum. *Food Hydrocolloids*, vol. 31:5-14.
40. GHAYEMPOUR S., MONTAZER M and RAD M. M., 2015-Tragacanth gum as a natural polymeric wall for producing antimicrobial nanocapsules loaded with plant extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol.81: 514–520.
41. GHEBREGZABEIER M., RUFINI S., MONALDI B. and LATO M., 1976- Thin-layer chromatography of carbohydrates. *Journal of Chromatography*, vol. 127: 133-162.
42. GILLET S., BLECKER C., PAQUOT M and RICHEL A., 2014- La relation structure chimique-propriétés physiques des galactomannanes extraits de la caroube. *Comptes Rendus Chimie*, vol. 17 :386–401.
43. GOETZ P., 2004- Les plantes immunostimulantes adjuvantes de la thérapeutique antitumorale. *Phytothérapie*, vol. 6: 180-182.
44. GORJI S.G., GORJI E.G and MOHAMMADIFAR M.A., 2014- Characterisation of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous medium. *Food Hydrocolloids*, vol. 34: 161-168.
45. GUIGNARD J. L., POTIER P., 2000- *Biochimie végétale*. 2^{ème} édition. Dunod. Paris: 97-99-123.
46. HA K.S., JO S.H., MANNAM V., KWON Y.I and APOSTOLIDIS E.,2016- Stimulation of Phenolics, Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities During Barley

- (*Hordeum vulgare* L.) Seed Germination. *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 71: 211-217.
47. HAINQUE B., BAUDIN B and LEFEBVRE P., 2008-Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. *Médecine-Science Flammarion*, Paris.122-221p.
 48. HAN N. S and ROBYT J. F. 1998- Separation and detection of sugars and alditols on thin layer chromatograms. *Carbohydrate Research*, vol.313: 135-137.
 49. HAN R., TANG F., LU M., XU C., HU J., MEI M and WANG H.,2016- Protective effects of *Astragalus* polysaccharides against endothelial dysfunction in hypertrophic rats induced by isoproterenol. *International Immunopharmacology*, vol. 38: 306–312.
 50. HANDFORD M.G., BALDWIN T.C., GOUBET F., PRIME T.A., MILES J., YU X and DUPREE P.,2003- Localisation and characterisation of cell wall mannan polysaccharides in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, vol. 218: 27–36.
 51. HASSAN L.K., HAGGAG H.F., ELKALYOUBI M.H., ABD EL-AZIZ M., EL-SAYED M.M and SAYED A.F.,2015- Physico-chemical properties of yoghurt containing cress seed mucilage or guar gum. *Annals of Agricultural Science*, vol. 60: 21–28.
 52. HE P.F., HE L., ZHANG A.Q., WANG X.L., QU L and SUN P.L., 2017- Structure and chain conformation of a neutral polysaccharide from *sclerotia* of *Polyporus umbellatus*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 155: 61-67.
 53. HE Z., LIANG F., ZHANG Y and PAN Y., 2014- Water-soluble polysaccharides from finger citron fruits (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*). *Carbohydrate Research*, vol. 388: 100-104.
 54. HOTON-DORGE M., 1976- Séparation des aldoses et des polysaccharides par chromatographie sur couche mince de cellulose et nouveau réactif de pulvérisation permettant leur révélation sensible. *Chromatography*, vol. 116: 417-423.
 55. JARDAT N.A., ZAID A.N., ABUZANT A., KHALAF S and ABU HASSAN N.,2017- Phytochemical and biological properties of four *Astragalus* species commonly used in traditional Palestinian medicine. *European Journal of Integrative Medicine*, vol. 9: 1-8.
 56. JEDDOU K., CHAARI F., MAKHTOUF S., NOURI-ELLOUZ O., HELBERT C.B et GHORBEL R. E., 2016- Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels. *Food Chemistry*, vol. 205:97–105.
 57. JIA X., MA L., LI P., CHEN M and HE C., 2016-Prospects of *Poria cocos* polysaccharides: Isolation process, structural features and bioactivities. *Trends in Food Science et Technology*, vol. 54: 52-62.

58. KAEWMANEE T., BAGNASCO L., BENJAKUL S., LANTERI S., MORELI C.F., SPERANZA G and COSULICH M.E., 2014-Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. *Food Chemistry*, vol. 148: 60-69.
59. KAUSHIK P., DOWLING K., ADHIKARI R., BARROW C.J and ADHIKARI B., 2017-Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. *Food Chemistry*, 215: 333–340.
60. KEMASSI A., DAREM S., CHERIF R., BOUAL Z., SADINE S.E., AGGOUNE M.S., OULD EL HADJ-KHELIL A and OULD ELHADJ M.D., 2014- Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M’Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, vol. 1: 1-5.
61. KHALFALLAH A., KARIOTI A., BERREHAL D., KABOUCH A., LUCCI M., BILIA A.R and KABOUCHE Z., 2014-A New Flavonol Triglycoside and Other Flavonol Glycosides from *Astragalus armatus* Willd. (Fabaceae). *Rec.Nat.Prod*, vol. 8: 12-18.
62. KIM K.T., RIOUX L.E and TURGEON S.L., 2014- Alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibition is differentially modulated by fucoidan obtained from *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*. *Phytochemistry*, vol. 98: 27-33.
63. KRIVOROTOVA T and SERSIKAITE J., 2014- Determination of fructan exohydrolase activity in the crude extracts of plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 17: 329-333.
64. KUCK L.S and NORENA C.P.Z., 2016-Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, vol. 194: 569-576.
65. LE ROUX K., 2012-Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé. Thème doctorat. Université de Nantes. 60p.
66. LI C., LI X., YIU L., FU X and LIU R.H., 2017-Fractionation, preliminary structural characterization and bioactivities of polysaccharides from *Sargassum pallidum*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 155:261–270.
67. LIU D., SHENG J., LI Z., QI H., SUN Y., DUAN Y and ZHANG W., 2013-Antioxidant activity of polysaccharide fractions extracted from *Athyrium multidentatum* (Doll.) Ching. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 56: 1– 5.

68. LIU J., WILLFO S. and XU C., 2015- A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 5: 31 – 61.
69. LV J., ZHANG Y., TIAN Z., LIU F., SHI Y., LIU Y and XIA P., 2017- Astragalus polysaccharides protect against dextran sulfate sodium-induced colitis by inhibiting NF- κ B activation. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol.98:723-729.
70. MARTINEZ M., BELTRAN O., RINCON F., DE PINTO G and IGARTUBURU J.M., 2015-New structural features of *Acacia tortuosa* gum exudates. *Food Chemistry*, vol. 182: 105–110.
71. MIAO Y.Z., LIN Q., CAO Y., HE G.H., QIAO D.R and CAO Y., 2011- Extraction of water-soluble polysaccharides (WSPS) from Chinese truffle and its application in frozen yogurt. *Carbohydrate Polymers*, vol. 86: 566-573.
72. MONSIGNY M., CLAIRE P. ROCHE A., 1988- Calorimetric Determination of Neutral Sugars by a Resorcinol Sulfuric Acid Micromethod. *Analytical Biochemistry*, Vol. 175: 525-530.
73. MOREL S, 2011-Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thème doctorat. Université d'Angers. 246p.
74. MOURADI A., CHIKHAOUI-KHAY M., AITAKKI S., AKALLAL R and HRRIMLE I., GIVERNAUD T., 2006- Analyse structurale des fractions polysaccharidiques extraites de la paroi cellulaire d'*Hypnea musciformis* (Rhodophyceae, Gigartinales). *Afrique SCIENCE*, vol. 2: 226-244.
75. NIU Y., WANG H., XIE Z., WHENT M., GAO X., ZHANG X., ZOU S., YAO W and YU L., 2011- Structural analysis and bioactivity of a polysaccharide from the roots of *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao. *Food Chemistry*, vol. 128: 620-626.
76. OKI T., MATSUI T and OSAJIMA Y., 1999-Inhibitory Effect of α -Glucosidase Inhibitors Varies According to Its Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47:550-553.
77. OLENNIKOV D. N et ROKHIN A. V., 2008- Polysaccharides of Fabaceae.I. Galactomanna of *Astragalus sericeocanus* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 44: 685-687.
78. OLENNIKOV D. N et ROKHIN A. V., 2011- Polysaccharides of Fabaceae. VI. Galactomannas from seeds of *Astragalus alpinus* and *A. tibetanus*. *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 47: 343-346.

79. OULD EL HADJ M.D., HADJ-MOHAMMED M. et ZABEIROU H., 2003- Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrionale est). *Courrier du Savoir*, vol.03 : 47-51.
80. OZENDA P., 1977- Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 622 p.
81. PAWAR H. A and LALITHA K.G., 2014-Isolation, purification and characterization of galactomannans as an excipient from *Senna tora* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 65: 167-175.
82. PRAJAPATI V.D., MAHERIYA P.M., JANI G.K and SOLANKI H.K., 2014- Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers*, vol.105: 97-112.
83. PURWANI N.N., DARMOKOESOEMO H and PUSPANINGSIH N.N.T., 2016- Hydrolysis of Corn cob Xylan using β -xylosidase GbtXyl43B from *Geobacillus thermoleovorans* IT-08 Containing Carbohydrate Binding Module (CBM). *Procedia Chemistry*, vol. 18: 75 – 81.
84. QIAN J.Y., BAI Y.Y., TANG J and CHEN W., 2015- Antioxidation and α -glucosidase inhibitory activities of barley polysaccharides modified with sulfation. *LWT - Food Science and Technology*, vol. 64: 104-111.
85. QUEZEL P. et SANTA S., 1962- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 193-201p.
86. RAMOS L.R.V., ROMANO L.A., MONSERRAT J.M., ABREU P.C., VERDE PE and TESSER M.B., 2015- Biological responses in mullet *Mugil liza* juveniles fed with guar gum supplemented diets. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 205: 98–106.
87. ROGER O., 2002- Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'exopolysaccharides bactériens : obtention, caractérisation et relation structure/fonction. Thème doctorat .Université de Paris. 189p.
88. ROMDHANE M., HADDAR A., GHAZALA I., BEN JEDDOU K., HELBERT C.B and ELLOUZ-CHAABOUNI S., 2017-Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities. *Food Chemistry*, vol. 216: 355–364.
89. RUFF Y., 2008-Biopolymères dynamiques : Oligo- et polysaccharides .Thème doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg.308p.
90. RUIZ G., 2005- Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges. Thème Doctorat. Université de Limoges. 38-189p.

91. SANCHEZ M.P., 2006- Polysaccharides ayant une activité immunomodulatrice chez les champignons indigènes du Québec. Thème doctorat .Université de Laval Québec.86p.
92. SHI L., 2016-Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 92: 37-48.
93. SIMS I. M., 2003- Structural diversity of fructans from members of the order Asparagales in New Zealand. Phytochemistry, vol. 63: 351-359.
94. SOUZA, R. O. S., MADEIRA, J. C., CHAGAS, F. D. S., PARREIRAS, L. A., SANTOS, G. R. C., ASSREUY, A. M. S., MOUR~ AO, P. A. S and PEREIRA, M. G., 2015- Purified polysaccharides of *Geoffroea spinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks. Carbohydrate Polymers, vol. 124: 208-215.
95. TEYEB H., HOUTA O., DOUKI W and NEFFATI M., 2012-Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Astragalus gombo* collectée à partir de deux sites de la Tunisie. Journal de la Société Chimique de Tunisie, vol. 14 : 63-67.
96. TIAN H., LU J., HE H., ZHANG L., DONG Y., YAO H., FENG W and WANG S., 2016-The effect of Astragalus as an adjuvant treatment in type 2 diabetes mellitus: a (preliminary) meta-analysis. Journal of Ethnopharmacology, vol. 191:206-215.
97. VANIER N.L., ELHALAL S.L.M., DIAS A.R.G and ZAVAREZE E.D.R., 2017- Molecular structure, functionality and applications of oxidized starches: A review. Food Chemistry, vol. 221:1546–1559.
98. VASILE F. E., MARTINEZ M. J., RUIZ-HENESTROSA V. M. P., JUDIS M. A and MAZZOBRE M. F., 2016- Physicochemical, interfacial and emulsifying properties of a nonconventional exudate gum (*Prosopis alba*) in comparison with gum arabic .Food Hydrocolloids, vol. 56: 245-253.
99. WANG Q and FANG Y., 2004- Analysis of sugars in traditional Chinese drugs. Journal of Chromatography b, vol. 812: 309–324.
100. WARRAND J., 2004- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum usitatissimum*).Thème doctorat. Université de Picardie Jules Verne, Amien cedex. 79-80p.
101. WIJESINGHE W.A.J.P and JEON Y.J., 2012- Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. Carbohydrate Polymers, vol. 88: 13–20.

102. WU S and HUANG X., 2017- Preparation and antioxidant activities of oligosaccharides from *Crassostrea gigas*. *Food Chemistry*, vol. 216: 243-246.
103. XU F ., LIAO K., WU Y., PAN Q., WUA L., JIAO H., GUO D., LI B and LIU B., 2016- Optimization, characterization, sulfation and antitumor activity of neutral polysaccharides from the fruit of *Borojoa sorbilis* cuter. *Carbohydrate Polymers*, vol. 151:364–372.
104. YAN X., YE R and CHEN Y., 2015- Blasting extrusion processing: The increase of soluble dietary fiber content and extraction of soluble-fiber polysaccharides from wheat bran. *Food Chemistry*, vol. 180: 106–115.
105. YU X.H ., LIU Y., WU X.L., LIU L.Z., FU W and SONG D.D., 2017- Isolation, purification, characterization and immunostimulatory activity of polysaccharides derived from American ginseng. *Carbohydrate Polymers*, vol. 156: 9–18.
106. ZHANG J., HUANG Y., HOU T and WANG Y., 2006- Hypoglycaemic effect of *Artemisia sphaerocephala* Krasch seed polysaccharide in alloxan-induced diabetic rats. *Swiss Med Wkly*, vol.136: 529-532.
107. ZHANG S and LI X.Z., 2015-Inhibition of α -glucosidase by polysaccharides from the fruit hull of *Camellia oleifera* Abel. *Carbohydrate Polymers*, vol. 115: 38-43.
108. ZHANG X. J., CHEN G. Z., KE M., HAN H., LU Z. W., WANG T. J., SUN F. H and YU H. Y., 2011- A study on *Astragalus mongholicus* heterosaccharides affecting contractions of isolated bladder detrusor strips. *Carbohydrate Polymers*, vol. 85: 312-317.
109. ZHU K., ZHANG Y., NIE S., XU E., HE S., GONG D., WU G and TAN L., 2017- Physicochemical properties and in vitro antioxidant activities of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. Pulp. *Carbohydrate Polymers*, vol. 155: 354-361.
110. ZHU Z. Y., LUO Y., DONG G. L., REN Y. Y., CHEN L. J., GUO M. Z., WANG X. T., YANG X. Y and Zhang Y., 2016.-Effects of the ultra-high pressure on structure and α -D-glucosidase inhibition of polysaccharide from *Astragalus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol.87:570-576.

Annexes

Annexe 1

Le tableau 2 décrit les différents produits chimiques utilisés au cours de l'expérimentation, leurs caractéristiques physicochimiques et leurs origines.

Tableau 2.- Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques utilisés au cours de l'expérimentation

Produit	Fournisseur	Forme	Formule chimique	Masse molaire g/mol	Densité g/cm ³	Pureté %
Acétate d'éthyle	BIOCHEM	Liquide	C ₄ H ₈ O ₂	88,11	/	/
Acétone	GPR RECTAPUR	Liquide	C ₃ H ₆ O	58,08	0,792	100
Acétonitrile	SCHARLAU	Liquide	C ₂ H ₃ N	41,05	99,9	99
Acide acétique	EDEN-LABO	Liquide	CH ₃ COOH	60,05	1,048- 1.051	99,5
Acide ortho-phosphorique	SIGMA-ALDRICH	Liquide	H ₃ PO ₄	98	1,69	85-88
Acide trifluoroacétique	SIGMA-ALDRICH	Liquide	CF ₃ COOH	114,02	1,49	99,8
Acide sulfurique	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	H ₂ SO ₄	98,07	/	98
Aniline	RECTAPUR	Liquide	C ₆ H ₅ NH ₂	93,13	1,02-1.03	98,5
Bleue de Coomassie	BIOCHEM CHEMOPHARMA	poudre	C ₄₅ H ₄₄ N ₃ NaO ₇ S ₂	/	/	/

Butanol	SIGMA ALDRICH	Liquide	C ₄ H ₉ OH	74,12	81	99,9
Chloroforme	SCHARLAU	Liquide	CHCl ₃	119,38	1,47	99-99,6
Ethanol	SIGMA-ALDRICH	Liquide	C ₂ H ₆ O	46,07	0,803- 0,805	99,5
Hydroxyde de sodium	EDEN LABO	Poudre	NaOH	39.997	2.13	99
Isopropanol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	C ₄ H ₈ O	60,10	0,803 0,805	- 99,5
Méthanol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	CH ₄ O	32.04	/	99
Phénol	FLUKA CHEMIK	Poudre	C ₆ H ₆ O	94,11	/	90,0
Pyridine	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	C ₅ H ₅ N	79.10	/	99.5
Résorcinol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Poudre	C ₆ H ₆ O ₂	110,11	/	99,5

Annexe 2

Le tableau 3 montre l'origine et type des appareils utilisées au cours de l'expérimentation.

Tableau 3.- Origine et type des appareils utilisées au cours de l'expérimentation

Appareil	Fournisseur	Type	Lieu de fabrication
Agitateur magnétique	VELP CSIENTIFICA	F20520162	EUROPE
Balance	OHAUS	DISCOVERY DV 215CD OHAUS.	USA.
Centrifugeuse	HETTICH ZENTRIFUGEN	D-7200 Tuttingen.	GERMANY
Etuve	MELAG	MELAG815.220V, 50HZ, 12.3A, 2700w.	GERMANY
Hotte	TEL STAR	TELSTAR AV-100. MODELE50/60 HZ, 0.6KW.	SPAIN
Lyophilisateur	CHRIST	CHRIST.ALPHA 1-2LD. 101021.230V, 50HZ, 0.7. KW.	GERMANY
Micropipette	SOCOREX	ACURA 821. 200-1000ML	SWIS
Rotavapor	HEYDOLPH INSTRUMENTS	LABOROTA 4002	GERMANY
Spectrophotomètre	SHIMADZU	UV-MINI-1240.UV-VIS SPECTROPHOTOMETRE	CHINA

Annexe 3

Les différentes solutions utilisées, les concentrations, la nature, le rôle et la méthode de préparation de chacune, sont illustrés dans le tableau 4.

Tableau 4. – Méthodes des préparations des différentes solutions utilisées

Manipulation	Solution	Concentration	Nature	Rôles	Méthode de préparation
Dosages des oses	Résorcinol	0.6%	/	Réactif de dosage	Dissoudre 0.6g de résorcinol dans 100 ml d'eau distillée.
	Phénol	5%	Acide	Réactif de dosage	Dissoudre 0.5g de phénol dans 10ml d'eau distillée
	Borax	0.0125M	Acide	Réactif de dosage	Dissoudre 11,44 g de tétraborate de sodium dans 250 ml d'H ₂ SO ₄ 96%.
	NaOH	0,5%	Base	Réactif de dosage	Dissoudre 0,5 g de NaOH dans 100 ml d'eau distillée.
	Méthahydroxydiphényl (MHDP)	0,15%	Base	Réactif de dosage	Dissoudre 150 g de MHDP dans 100 ml de NaOH 0,5%.
Dosages des protéines	Bleu de Coomassie	/	/	Réactif de dosage	Mettre 25 ml d'éthanol 95% avec 50 mg du bleu de Coomassie. Agiter pendant 2h. Mélanger avec 50 ml d'acide phosphorique de 85%. Diluer avec l'eau distillée jusqu'à 500 ml

Hydrolyse	TFA	2M	Acide	Réactif d'hydrolyse	Compléter 7.51 ml de TFA 99% aux 50 ml avec l'eau distillée.
CCM	Système 1(HOTON- DORGE, 1976)	/	/	Phase mobile pour le CCM	Mélanger l'acétate d'éthyle, le pyridine, l'eau, le n-butanol et l'acide acétique dans les proportions 5-4-4-10-2 (v/v) respectivement, jusqu'à l'homogénéisation complète.
	Système 2(CHENG <i>et al.</i> , 2010)	/	/	Phase mobile pour le CCM	Mélanger le chloroforme, le n-butanol, le méthanol, l'acide acétique et l'eau dans les proportions 4,5-12,5-5-1,5-1,5 (v/v) respectivement, jusqu'à l'homogénéisation complète.
	Système 3 (HAN <i>et al.</i> , 1998)	/	/	Phase mobile pour le CCM	Mélanger l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle, le propanol et l'eau avec les proportions 8,5-2-2-1,5(v/v) respectivement, jusqu'à l'homogénéisation complète.
	Nigrum (GHEBREGZABEIE R <i>et al.</i> , 1975)	/	/	Révélation des spots	Solution A, dissoudre 2 g de diphenylamine dans 50 ml d'acétone. Solution B, 48 ml d'acétone sont complétés jusqu'à 50 ml par l'aniline. Mélanger les deux solutions A et B, et ajouter 10 ml d'acide orthophosphorique à 85%

Annexe 4

Le tableau 5 présente les différentes solutions mères des dosages colorimétriques, les concentrations et la méthode de préparation de chacune. Tandis que les différentes gammes étalons sont illustrées dans les tableaux 6,7 et 8.

Tableau 5. – Méthodes des préparations des différentes solutions mères

Manipulation	Solution mère	Concentration%	Méthode de préparation
	Extrait polysaccharidique (APS)	0.01	Dissoudre 10mg de l'extrait polysaccharidique lyophilisé dans 100ml d'eau distillée.
Dosage des oses totaux (DEBOIS <i>et al.</i> , 1956) et neutres(MONSIGNY <i>et al.</i> , 1988).	Glucose	0.01	Dissoudre 10mg du glucose dans 100ml d'eau distillée.
Dosage des oses acides (BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN., 1973).	Acide glucuronique	0.01	Dissoudre 10mg du glucose dans 100ml d'eau distillée.
Dosage des protéines (BRADFORD, 1976).	Sérum albumine bovine (BSA)	0.01	Dissoudre 0,01g de BSA dans 100 ml d'eau distillée.

Tableau6 -Gamme étalon du glucose 0.001% à 0.01%

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau distillée (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
Glc 0,01% (ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg.l ⁻¹)	0	10	20	50	80	100

Tableau 7.- Gamme étalon d'acide glucuronique 0.001% à 0.01%

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau distillée (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
GlcA 0,01% (ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg.l⁻¹)	0	10	20	50	80	100

Tableau 8.- Gamme étalon de sérum albumine bovine 0.001% à 0.1%

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau distillée (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
BSA 0,01% (ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg.l⁻¹)	0	100	200	500	800	1000

Annexe 5

L'étude de la composition de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles est réalisée par des dosages colorimétriques. La teneur en oses totaux est déterminée par la méthode de DUBOIS (1956). Tandis que les oses constitutifs neutres et acides sont dosés selon la méthode de MONSIGNY (1988) et de BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN (1973) respectivement, à partir de différentes concentrations de glucose (Glc) et d'acide glucuronique (Glc A) (0.001-0.01%). De même, la méthode de BRADFORD (1976) a donné les concentrations des protéines à partir de gamme d'étalons de sérum albumine bovine (0.001 – 0.01%).

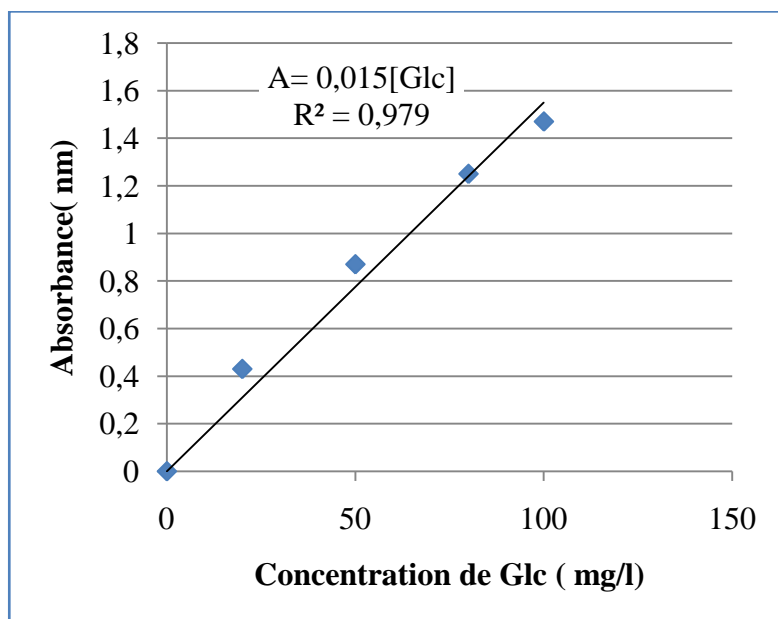


Figure 7.-Courbe d'étalonnage pour les oses totaux (DUBOIS *et al.*, 1956)

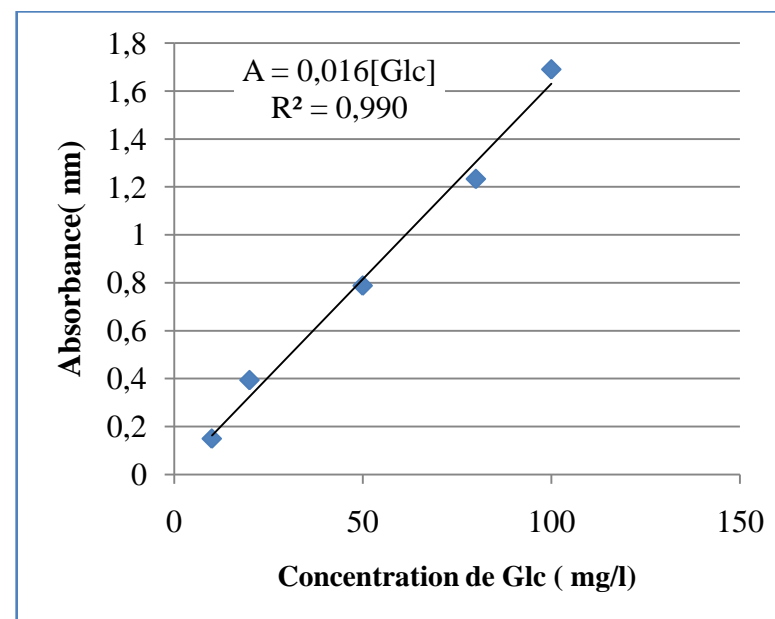


Figure 8.-Courbe d'étalonnage pour les oses neutres (MONSIGNY *et al.*, 1988)

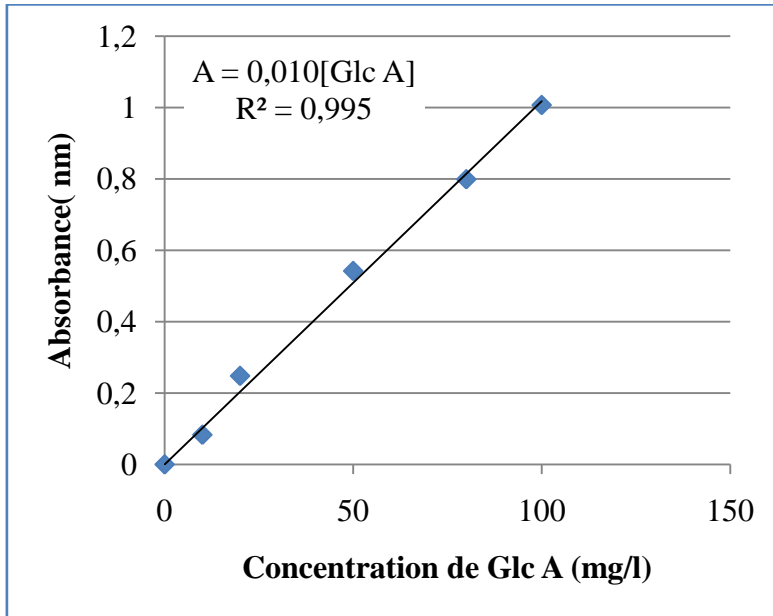


Figure 9.-Courbe d'étalonnage pour les oses acides (BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN, 1973)

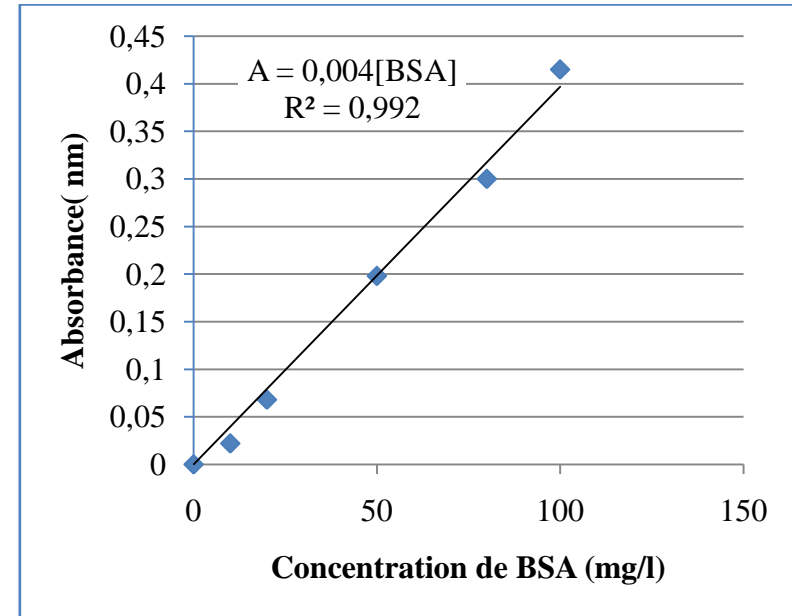


Figure 10.-Courbe d'étalonnage pour les protéines (BRADFORD, 1976)

Annexe 6

Le tableau 9 présente les rapports frontaux (R_f) des oses étalons et l'extrait polysaccharidique (APS) dans les trois systèmes de CCM

Tableau 9.- Les rapports frontaux (R_f) des oses étalons et l'extrait polysaccharidique (APS) dans les trois systèmes de CCM

	Système 1 (HOTON-DORGE, 1976)	Système 2 (CHENG <i>et al.</i> , 2010)	Système 3 (HAN et ROBYT, 1998)
Gal A.	0.158	0.067	0.082
Glc A.	0.146	0.092	0.154
Ara	0.422	0.404	0.638
Gal	0.322	0.327	0.537
Glc	0.365	0.383	0.515
Man	0.420	0.401	0.581
Rha	0.657	0.580	0.835
Xyl	0.540	0.50	0.722
Fruc	0.412	0.376	/
Sacc	0.281	0.277	/
	0.353	0.314	0.664
	0.455	0.413	0.759
APS	0.544	0.506	0.824
		0.574	

Annexe 7

Pour l'activité antidiabétique, la solution mère est préparée avec 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique lyophilisé dans 100µl d'eau distillée. Les dilutions sont présentés dan le tableau 10.

Tableau10.- Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

	Blanc	2.5%	5%	7.5%	10%	25%	50%	75%	100%
Eau distillée (µl)	20	19.75	19.5	19.25	19	15	10	05	0
Solution mère (µl)	0	0.25	0.5	0.75	01	05	10	15	20
Concentratio n (mg.ml⁻¹)	0	2.5	5	7.5	10	25	50	75	100

Résumés

Etude des polysaccharides de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del. récoltée dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien).

Résumé

Le présent travail est porté sur l'étude des polysaccharides issus de la gomme d'*Astragalus gyzensis* Del., une plante spontanée à caractère médicinal récoltée dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien). L'étude consiste à l'extraction des constituants polysaccharidiques hydrosolubles. La gomme étudiée est prétraitée par l'éthanol, précipitée par l'acétone, puis lyophilisée. Le rendement massique d'extraction des polysaccharides hydrosolubles est de 8,10%. La détermination de la composition globale de l'extrait polysaccharidique obtenu, par des dosages colorimétriques, montre des taux de 32,97±0,03% en oses totaux, de 23,62±0,04% en oses neutres, de 13,60±0,01% en oses acides et un taux de 15,91±0,002% en protéines. L'analyse par chromatographie sur couche mince révèle que l'extrait brut des polysaccharides de la gomme d'*A. gyzensis* Del. renferme un hétéropolysaccharide dont les constituants majeurs sont d'arabinose, de xylose, de rhamnose, de galactose et de glucose. Cela indique la présence probable d'un arabinoxylyane. L'étude de l'activité antidiabétique montre que l'extrait des polysaccharides a un faible pouvoir inhibiteur de l' α -D-glucosidase de 58,66% pour une concentration maximale de 100 mg/ml, en comparaison à l'acarbose comme contrôle positif qui a un fort pouvoir inhibiteur de 100% à partir de la concentration 6.45 mg/l.

Mots clés: Polysaccharides, *Astragalus gyzensis* Del., Gomme, Activité antidiabétique, Sahara.

Study of the polysaccharides of the gum of *Astragalus gyzensis* Del. Harvested in the region of Ghardaïa (Northern Sahara East Algeria).

Abstract

This work is devoted to study the polysaccharides that were extracted from the gum of *Astragalus gyzensis* Del. It was collected from the region of Ghardaïa (Northern Sahara East Algeria). It is a wild plant used in traditional medicine. The gum studied is pretreated with ethanol, precipitated with acetone, and then lyophilized. The mass yield of extraction of the water-soluble polysaccharides is 8.10%. The determination of the biochemical composition of the polysaccharide extract obtained by colorimetric assays showed levels of 32.97 ± 0.03% of total carbohydrates, 23.62 ± 0.04% of neutral carbohydrates, 13.60 ± 0.01% of acidic carbohydrates and 15.91 ± 0.002% of proteins. The analysis by thin layer chromatography revealed that the crude extract of the polysaccharides of *A. gyzensis* Del. Gum, contains a heteropolysaccharide whose major constituents are arabinose, xylose, rhamnose, galactose and glucose. This indicates the probable presence of an arabinoxylan. The study of the antidiabetic activity shows that the extract of the polysaccharides has a low α -D-glucosidase inhibitory power of 58.66% for a maximum concentration of 100 mg / ml, compared with acarbose as a positive control which has a strong inhibitory power of 100% from the concentration of 6.45 mg / l.

Keywords: Polysaccharides, *Astragalus gyzensis* Del., Gum, Antidiabetic activity, Sahara

دراسة السكريات المتعددة لصمغ *Astragalus gyzensis* Del. المحصودة من منطقة غرداية (شمال شرق صحراء الجزائر)

ملخص

يركز هذا العمل على دراسة السكريات المتعددة المستخلصة من صمغ نبتة *Astragalus gyzensis* Del. التي تم جمعها من منطقة غرداية (شمال شرق صحراء الجزائر) وهي نبتة برية ذات طابع طبي مستخدمة في الطب التقليدي. تشمل الدراسة استخلاص السكريات المتعددة القابلة للذوبان في الماء، حيث تمت معالجة الصمغ بالإيثانول وترسيبه بالأسيتون وأخيراً تجفيفه. المرادود الكلي للسكريات المستخلصة قدر بنسبة 8,10%، بينما دراسة التركيبة الإجمالية للسكريات المتعددة المستخلصة أن السكريات الكلية تمثل نسبة 32,97±0,03%، بينما تمثل المعتدلة نسبة 23,62±0,04%، أما الحمضية فتمثل نسبة 13,60±0,01%، وكذا نسبة البروتينات تقدر بـ 15,91±0,002%. كما أظهر التحليل بإستعمال الكروماتوغرافيا أن مستخلص السكريات من صمغ *A. gyzensis* Del. غير متجانسة تحتوي على الأرابينوز والإكسيلوز والرامنوز والغلاكتوز والغلوكوز هذا ما يزيد احتمالية وجود الأرابينوإكسيلان.

أظهرت دراسة خاصة مضاد للسكري والتي تعتمد على دراسة قدرة السكريات المتعددة المستخلصة على إيقاف نشاط أنزيم α -D-glucosidase، أن هاته السكريات لها قدرة منخفضة على إيقاف نشاط الأنزيم حيث يلاحظ قدرة قصوى بنسبة 58,66% في التركيز 100.00 مغ / مل مقارنة مع الأكاربوز الذي لديه قدرة إيقاف 100% بداية من التركيز 6.45 مغ/مل.

الكلمات المفتاحية: السكريات المتعددة، *Astragalus gyzensis* Del.، صمغ، نشاط مضاد السكري، صحراء.